THÈSE

présentée

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

mention sciences - NEUROPHARMACOLOGIE

à

L'UNIVERSITÉ DE PARIS VI

par

M.S. KRISHNAMOORTHY

Sujet de la Thèse:

L'HISTAMINE CEREBRALE: ESSAIS DE MISE EN EVIDENCE DE VOIES HISTAMINERGIQUES CEREBRALES CHEZ LE RAT

Soutenues le 9 OCT. 1973 devant la Commission

composée de: M. BUSER, Président

Mme ALBE-FESSARD,

M. SCHWARTZ, Examinateurs

THÈSE

présentée

pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

mention sciences - NEUROPHARMACOLOGIE

à

L'UNIVERSITÉ DE PARIS VI

par

M.S. KRISHNAMOORTHY

Sujet de la Thèse:

L'HISTAMINE CEREBRALE: ESSAIS DE MISE EN EVIDENCE DE VOIES HISTAMINERGIQUES CEREBRALES CHEZ LE RAT

Soutenues le devant la Commission

composée de: M. BUSER, Président

Mme ALBE-FESSARD,

M. SCHWARTZ, Examinateurs

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542715_0002

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Neurochimie (U. 109) de l'I.N.S.E.R.M., Paris.

Je tiens à remercier respectueusement Monsieur le Professeur P. BUSER d'avoir bien voulu accepter de présider le Jury de cette thèse.

Je suis heureux de trouver ici l'occasion d'exprimer à Madame le Professeur D. ALBE-FESSARD le témoignage de toute ma gratitude. Ses conseils et sa gentillesse ont été décisifs pour mon orientation. Qu'elle trouve ici l'expression de mes vifs remerciements.

Ce travail a été mené sous la direction de Monsieur le Professeur J.C. SCHWARTZ. Qu'il me soit permis de lui témoigner toute ma reconnaissance, à la fois pour le dynamisme et la patience avec lesquels il m'a constamment prodigué conseils et encouragements.

Je suis heureux d'exprimer à
Monsieur le Professeur Agrégé J. FEGER toute ma gratitude et à souligner combien j'ai apprécié ses conseils et suggestions ingénieux.

Je voudrais exprimer ici ma très vive sympathie et mes sincères remerciements, tout particulièrement à Madame le Docteur Monique GARBARG, qui a collaboré maintes fois à ce travail.

J'exprime tous mes remerciements à Madame E. PATTOU pour son aide particulièrement gentille et efficace.

Je remercie Monsieur le Docteur Cl. KORDON de s'être intéressé à ce travail et d'avoir suscité de fructueuses discussions.

Je remercie aussi tous mes amis du laboratoire : Michel BAUDRY, Serge BISCHOFF, Monique de BOULONGNE, Lucette GAGNANT, Jean-Paul HERMAN, Christian JULIEN, Marie-Pascale MARTRES, Hélène POLLARD, Christianne ROSE, Martine VERDIERE-SAHUQUE qui ont participé directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Je tiens à témoigner mon affection à
Madame BACHET et à Madame BERGER, qui ont su créer une ambiance cordiale au sein du laboratoire.

A l'occasion de cette thèse, je suis heureux de pouvoir exprimer mon affection à tous mes amis, tout particulièrement à Melle KARASEK, M. et Mme BRUGIERE et M. J.C. BLANCHARD, M. Gaurisankar MISHRA, Melle CAZALIS, M. Jean-Pierre VIAULT, qui m'ont encouragé pendant la réalisation de ce travail, et qui ont contribué à rendre mon séjour agréable.

Mes remerciements s'adressent également à l'ensemble du Personnel de C.R.O.U.S. de Paris, tout particulièrement à Mademoiselle MENU, ainsi qu'à Monsieur CHATTERJI, Ambassadeur de l'INDE à Paris et à tout le Personnel de l'Ambassade de l'INDE à Paris, qui ont facilité la poursuite de mon séjour en France.

Il me reste encore à remercier le Gouvernement Français qui m'a accordé une aide matérielle au cours de mon agréable séjour en France.

S O M M A I R E

- INTRODUCTION

- HISTORIQUE

A. - Propriétés chimiques de l'histamine..... 6
B. - Localisation régionale..... 6
C. - Localisation subcellulaire..... 9
D. - Ontogenese du système histaminergique du cerveau de Rat..... 12
E. - Effets de l'histamine exogène sur le système nerveux central..... 14
F. - Données actuelles sur le métabolisme de l'histamine cérébrale
1) Biosynthèse et sa régulation..... 17
2) Catabolisme..... 21
3) Vitesse de renouvellement..... 24
G. - Conclusion : l'éventualité d'un rôle de neuromédiateur de l'histamine cérébrale..... 25

- METHODOLOGIE

I. - Méthodes physiologiques..... 27
A. Lésions..... 27
1) Par électrocoagulation..... 28
2) Par section..... 28
B. Dissection..... 28

II.- Histologie..... 30

III.- Méthodes biochimiques..... 30
A. Dosage spectrofluorimétrique des amines..... 30
1) Isolement chromatographique des amines..... 30
2) Dosage fluorimétrique de la Noradrénaline..... 31

.../...

3) Dosage fluorimétrique de la Sérotonine..... 32
4) Dosage fluorimétrique de l'Histamine..... 32
B. Dosage de l'histamine par méthode radio-enzymatique..... 33
1) Principe..... 33
2) Dosage..... 34
C. Déterminations d'activités enzymatiques..... 35
1) Histidine décarboxylase..... 35
a - Dosage radioenzymatique..... 35
b - Dosage radiochromatographique..... 36
2) Histamine méthyltransférase..... 37
3) Déshydrogénase lactique..... 38
D. Fractionnement subcellulaire..... 39
E. Dosage de protéine..... 40

- CHAPITRE I - Effet de lésions du faisceau médian du télencéphale sur l'histamine cérébrale.

A. - Rappel anatomique..... 41
B. - Lésions du FMT..... 42
C. - Résultats..... 43
1. Lésions mésencéphaliques unilatérales..... 43
2. Lésions unilatérales du FMT dans l'aire hypothalamique latérale..... 44
D. - Discussion et Conclusion..... 45

- CHAPITRE II - Lésions bilatérales centrées sur le Fornix

A. - Rappel anatomique..... 50
B. - Lésions du Fornix..... 51
C. - Résultats..... 52
D. - Discussion et Conclusion..... 54

.../...

- CHAPITRE III - Sections frontales en avant de l'hypothalamus

A. - Isolement du bulbe olfactif..... 59
B. - Section frontale (diencéphalique) au niveau supra-chiasmatique..... 60
1. Section..... 60
2. Résultats..... 60
3. Discussion et Conclusion..... 61

- CONCLUSIONS GENERALES..... 64

- BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

L'histamine (imidazolyl-éthylamine) (HA) dont la synthèse date de 1907, a très vite été reconnus comme une amine biogène, douée de propriétés pharmacologiques aussi diverses qu'intenses. Aux grandes étapes des découvertes initiales sont attachés les noms de : WINDAUS et VOGT (1907) pour sa synthèse ; DALE et LAIDLAW (1910, 1912) pour la description de nombre de ses effets physiologiques et pharmacologiques. MELLANBY et TWORT (1912), ABEL et KUBOTA (1919) et BEST et coll. (1927) ont révélé sa présence dans de nombreux tissus. Cependant, il a fallu attendre KWIATKOWSKI (1943) pour qu'il soit fait état de la présence d'HA au niveau du système nerveux central (SNC).

Durant ces dernières années, on a porté un grand intérêt aux amines cérébrales ayant un rôle biologique ; cependant, HA a été bien moins étudiée que l'acétylcholine (ACh), la 5-hydroxytryptamine (5-HT) et les catécholamines (CA). Alors que le rôle de médiateur synaptique de ces dernières est généralement admis, notre connaissance de l'HA cérébrale est encore très incomplète, probablement parce que (i) le taux d'HA cérébrale est très bas (10 fois plus faible que celui de 5-HT et de la noradrénaline (NA). (ii) des méthodes chimiques spécifiques et sensibles pour le dosage d'HA ne sont au point que depuis peu. Cependant, de nombreuses évidences tendent à montrer qu'il existe, entre toutes ces amines, des similitudes, telles que leur distribution régionale et leurs voies métaboliques cérébrales. Comme les autres amines biogènes, l'HA cérébrale se trouve, ainsi que les enzymes assurant sa synthèse et son catabolisme, dans le cerveau de nombreuses espèces. Elle est dans le cerveau de rat, répartie de façon non uniforme, ses plus fortes concentrations se trouvant dans l'hypothalamus, et ses plus basses dans le cervelet (Rönnberg et Schwartz, 1969). Quand elle est appliquée par iontophorèse sur des neurones cérébraux, elle induit des modifications dans la transmission synaptique (Krnjevic et Phillis, 1963 ; Phillis et coll., 1968). A l'aide de techniques de fractionnement subcellulaire, Carlini et Green (1963), Kataoka et de Robertis (1967) et Kuhar et coll. (1971) ont montré que la majeure partie d'HA cérébrale chez le rat adulte était contenue dans les terminaisons nerveuses. Tous ces résultats suggèrent fortement

.../...

une fonction possible de neurotransmetteur au niveau cérébral pour HA. Cependant le rôle de cette amine n'est pas encore élucidé. La mise en évidence éventuelle de neurones responsables de sa synthèse et de son stockage est de toute évidence une condition essentielle pour la détermination du rôle fonctionnel d'un médiateur supposé. Jusqu'à maintenant, HA cérébrale n'a pas encore été associée avec aucun système anatomique spécifique alors que, pendant ces dernières années, de nombreuses informations ont été obtenues en ce qui concerne l'association de monoamines cérébrales avec des faisceaux cérébraux identifiés précisément (Fuxe et coll., 1970; Moore, 1970). Ces informations ont été obtenues à l'aide d'un grand nombre de techniques variées telles que autoradiographie, biochimie, histochimie, histochimie enzymatique, immuno-histochimie, microscopie électronique et électrophysiologie. C'est avec la technique histochimique de Falck et Hillarp que les premières preuves d'une localisation cellulaire des monoamines a été apportée (Falck et Hillarp, 1959; Carlson et coll., 1962 a,b).

Par la suite Dahlström et Fuxe 1964b, 1965; Andén et coll. 1964,1965a; et Fuxe et coll., 1968) ont montré qu'il existait des neurones contenant respectivement de la dopamine (DA),NA et 5-HT dans le cerveau et la moëlle épinière. Hökfelt (1967,1968) montra que les terminaisons de ces neurones forment des jonctions synaptiques et que la majeur partie de DA, NA et 5-HT de ces neurones se trouve dans de petites vésicules granulaires (500 Å de diamètre) situées à la proximité de la jonction synaptique et équivallentes aux vésicules synaptiques des autres terminaisons nerveuses.

La dégénérescence nerveuse est un moyen très puissant pour l'étude de l'origine nerveuse des transmetteurs à la périphérie puis au niveau du SNC. Il est bien connu que la destruction de nerfs végétatifs entraine une diminution du contenu en ACh et CA dans les tissus innervés par ces nerfs détruits (Brown et Feldberg, 1936; Mac Intosh, 1938; Cannon et Lissak, 1939; Von Euler et Purkhold 1951). Pour le SNC ces travaux de l'école suédoise ont été confirmés par l'étude des effets de

.../...

lésions sur les concentrations en amine de différentes structures du cerveau. Ainsi Heller et ses collaborateurs ont montré que des lésions localisées dans le faisceau médian du télencéphale ((FMT), Medial forebrain bundle des anglo-saxons), qui contient les principaux groupes des fibres noradrénergiques et sérotoninergiques à direction ascendante, produisent une diminution (30%) des concentrations cérébrales de NA et de 5-HT. Certaines de ces lésions n'affectent que les concentrations de NA sans modifier celles de 5-HT (Heller et coll.,1962 ; Heller et Moore, 1965). D'autre part, Sourkes et Poirier (1965) ont observé chez des singes que des lésions faites au niveau de la partie compacte de la substance noire -structure riche en corps cellulaires de neurones dopaminergiques- entraînent une diminution considérable de la DA dans le noyau caudé homolatéral ; celle-ci est accompagnée d'un syndrome de type parkinsonien. Plus récemment, Bloom et ses collaborateurs ont localisé les fibres et les synapses noradrénergiques du cervelet en utilisant simultanément les techniques histochimiques de fluorescence, d'autoradiographie en microscopie électronique, de dégénérescence spécifique des fibres catécholaminergiques à l'aide de 6-hydroxydopamine (6-OHDA) et enfin des techniques électrophysiologiques de iontophorèse, (Bloom et coll., 1971 ; Hoffer et coll., 1971).

Ces diverses études d'histochimie de fluorescence ont été complétées par l'analyse de la dégénérescence des fibres et des terminaisons nerveuses correspondantes après lésions électrolytiques très précises de noyaux ou des voies aminergiques ou après destruction pharmacologique spécifique par la 6-OH DA des neurones catécholaminergiques (Ungerstedt, 1971).

Ainsi il apparait qu'une technique histochimique est préférable pour établir une carte des neurones contenant un possible neurotransmetteur. Malheureusement, les premiers essais de localisation de l'HA n'ont pas été couronnés de succès (Kuhar et Aghajanian cités par Snyder 1972), vraisemblablement à cause d'un manque de spécificité et de sensibilité de la méthode (Häkanson cité par Garbarg et al, 1973; Dahlin , 1967). Dans le présent travail, une association de techniques bio-

.../...

chimiques et de lésions électrolytiques de faisceaux nerveux déterminés ou de groupes de cellules a été utilisée afin de préciser les quelques données préexistentes concernant l'existence possible de terminaisons nerveuses histaminergiques.
Ce travail regroupe des données obtenues à partir des études suivantes :

A. - Lésions mésencephaliques et hypothalamiques :

Ces lésions sont faites sur le FMT connu pour regrouper les fibres cérébrales sérotoninergiques et noradrénergiques. Puisque la distribution régionale de HA est grossièrement semblable à celle de 5-HT et NA, il était intéressant de voir si des fibres histaminergiques y étaient aussi présentes, avec la conviction que si tel était le cas, il y aurait une chute du taux d'HA cérébrale après dégénérescence de ce faisceau.

B. - Lésions diencephaliques :

Ces lésions sont faites sur le fornix dans le but d'interrompre les fibres aboutissant aux corps mammillaires, région ayant le taux d'HA le plus élevé, et HA a été dosée dans trois fractions différentes de l'hypothalamus.

C. - Sections frontales en avant de l'hypothalamus :

Il a été rapporté dans ce travail les résultats obtenus après section du cerveau au niveau supraoptique ainsi que la section des lobes olfactifs.

HISTORIQUE

A. - PROPRIETES CHIMIQUES DE L'HISTAMINE

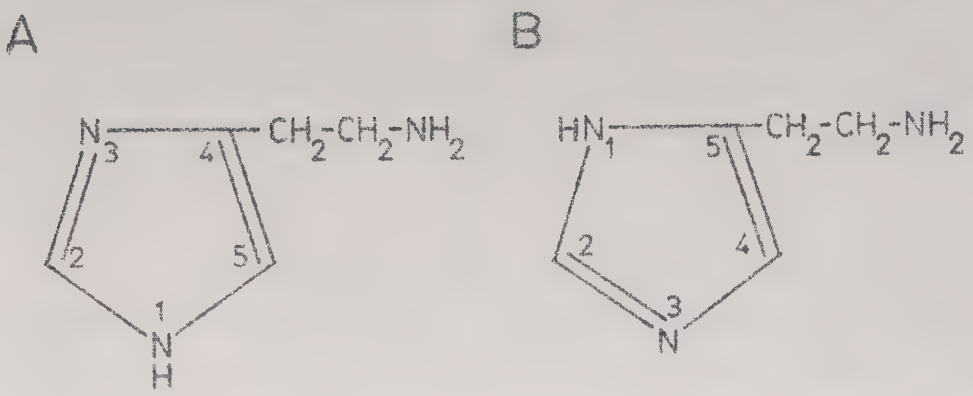


Figure 1 : Les deux tautomères de l'histamine

HA présente 2 formes tautomères A et B (figure 1) qui n'ont pas été séparées. Des données récentes indiquent que la forme A prédomine mais que la forme B peut aussi être mise en évidence à partir de l'étude dans les urines, des métabolites du 1 méthyl 5 (β-aminoéthyl) imidazole. La salification se fait à partir du groupement amine primaire qui est protoné au pH physiologique. Le carbone 5 de HA (forme tautomère A) est fortement nucléophile. Le carbone 2 (forme tautomère A) déficient en électron peut attirer les groupements nucléophiles.

B. - LOCALISATION REGIONALE

Il a fallu attendre KWIATKOWSKI (1943) pour qu'il soit fait état de la présence d'HA au niveau du SNC. Dès que des techniques spécifiques et sensibles pour doser HA dans le SNC ont été au point (dosages biochimiques, fluorimétriques, radio-enzymatiques, etc...)la distribution régionale de l'HA a été étudiée dans le cerveau de quelques espèces animales : chez le chien (Adam, 1961 ; Boissier, 1971), le chat (Adam et Hye, 1966; White, 1966 ; Boissier, 1971) ; le singe (Michaelson et coll. 1968 ; Snyder et Taylor, 1972a) ; le rat (Rönnberg et Schwartz, 1969 ; Taylor et Snyder, 1971b ; Boissier, 1971) ; la souris (Taylor et Snyder, 1972a) ; le lapin, le cobaye (Boissier, 1971).

.../...

En schématisant on peut dire qu'il existe des régions où le taux d'HA est relativement élevé : l'hypothalamus et le thalamus ; des régions où le taux est relativement bas : la moëlle, le cervelet, le tronc cérébral et le cortex ; enfin que pour les autres régions cérébrales les taux sont intermédiaires entre ces extrêmes, et variables selon les espèces animales.

Il apparait donc que HA est l'une des amines biologiquement active qui sont concentrées dans l'hypothalamus. (Amin et coll., 1954 ; Vogt, 1954 : von Euler, 1946). Grâce à l'extrême sensibilité de leur microméthode radio-enzymatique, Taylor et coll. (1972) ont pu se livrer à une étude plus fine encore de la répartition régionale. Cette étude a porté sur le cerveau de singe (Macaca mulatta). Ils ont dosé HA dans différents noyaux de l'hypothalamus (tableau 1) ainsi que dans plusieurs régions du cerveau.

Il y a des variations du taux d'HA d'un facteur 25 entre les différents noyaux de l'hypothalamus. C'est dans les corps mammillaires que l'on trouve le taux d'HA le plus haut (250 fois plus élevé que dans le cervelet -la région la moins riche en HA- et 25 fois plus que dans le septum). Dans les noyaux paraventriculaires et préoptiques, le taux d'HA ne représente que 35 % de celui des corps mammillaires mais il est cependant 8 ou 9 fois plus élevé que celui des noyaux du septum.

Cette grande hétérogénéité dans la répartition de l'HA ne peut, de toute évidence, suffire à lui faire attribuer un rôle physiologique. Cependant cette observation rapprochée de la très faible teneur en amine de la substance blanche (corps calleux) contrastant avec la teneur élevée des noyaux hypothalamiques riches en synapses suggère une localisation possible dans des terminaisons nerveuses spécifiques.

.../...

FRACTION	TAUX D'HA EN m g/mg PROTEINE
CORPS MAMMILLAIRES	26,2
NOYAU SUPRA OPTIQUE	20,2
NOYAU VENTRO MEDIAN	17,0
NOYAU VENTRO LATERAL	15,8
EMINENCE MEDIANE	11,4
NOYAU PARA VENTRICULAIRE	7,1
NOYAU PREOPTIQUE	6,2
INFUNDIBULUM	5,2

Tableau 1 : Répartition de l'HA dans différents noyaux de l'hypothalamus de singe : Macaca Mulatta. Tableau établi d'après les résultats de Taylor et coll., 1972.

La répartition régionale de l'HA au niveau cérébral ne coïncide pas avec celle des mastocytes. On sait que ces cellules sont à la périphérie, les principaux "réservoirs" de l'amine. Au niveau du SNC ces mastocytes sont localisés dans le tissu conjonctif entourant des vaisseaux sanguins situés près du troisième ventricule et des ventricules latéraux. L'hypophyse, l'éminence médiane et l'épiphyse, riche en HA, comportent tout au moins chez certaines espèces, de nombreux mastocytes. Il est probable que dans ces trois régions HA soit mastocytaire. Par contre dans les autres régions du cerveau on ne trouve pas de ces mastocytes (Riley, 1959 ; Kelsall et Lewis, 1964) et, à ces niveaux, l'HA est associée à des éléments du tissu nerveux proprement dit. C'est ce que démontre l'étude de la localisation subcellulaire de l'amine.

C. - LOCALISATION SUBCELLULAIRE

Le fractionnement subcellulaire est un très bon moyen d'étudier la localisation intracellulaire de nombreux composés cérébraux. Un critère important pour un rôle éventuel de neurotransmetteur d'une substance chimique est sa localisation au niveau synaptosomal. Chez plusieurs espèces de mammifères, l'HA cérébrale a été retrouvée principalement dans la fraction particulaire du fractionnement subcellulaire. (Michaelson et Whittaker, 1962 ; Michaelson et Dowe, 1963 ; Carlini et Green, 1963 ; Kataoka et de Robertis, 1967 ; Kuhar et coll., 1971). Selon certains auteurs, la plupart de HA cérébrale a été retrouvée dans la fraction mitochondriale brute (Michaelson et Coffman, 1967) tandis que pour d'autres auteurs elle a été retrouvée principalement dans la fraction microsomale (Carlini et Green, 1963 ; Kataoka et de Robertis, 1967). Le désaccord entre ces résultats étant dû à des différences dans les conditions de centrifugation utilisées pour la préparation des fractions mitrochondriales brutes.

Kataoka et de Robertis (1967) poussent en profondeur cette étude dans le cerveau du rat, et établissent que la concentration en HA la plus élevée se trouve dans la fraction mitochondriale brutes. Le subfractionnement de celle-ci par ultracentrifugation différentielle, des dosages d'HA dans ces fractions, le recours à des chocs osmotiques ont permis à ces auteurs d'affirmer que l'HA est présente dans des petites terminaisons nerveuses et dans les vésicules synaptiques du cortex cérébral.

Kuhar et coll. (1971) ont envisagé à nouveau cet aspect du problème avec la technique isotopique enzymatique, dans diverses régions de cerveau de rat. Ils arrivent aux mêmes conclusions : dans toutes les régions cérébrales étudiées, l'HA est localisée de façon prédominante dans la fraction mitochondriale brute qui comporte des mitochondries et des synaptosomes. Cette fraction mitochondriale brute a été centrifu-

.../...

en gradient de densité, saccharose (1,5 à 0,32 M), les divers organites présents se disposent alors au niveau correspondant à leur équilibre apparent de densité. Les mitochondries sont reconnues grâce à leur activité monoamino-oxydasique.

Les microsomes sont identifiés par leur sensibilité au choc osmotique qui libère dans le milieu où il s'exerce des ions potassium et une activité lacticodeshydrogénasique. Après cette centrifugation l'HA est trouvée au taux le plus élevé dans la fraction où le choc osmotique révèle un taux en K^+ et une activité lacticodeshydrogénasique maximale, c'est-à-dire dans la subfraction synaptosomale : région du gradient moins dense que celle à laquelle correspond le maximum d'activité monoamino-oxydasique ; i. e. la subfraction mitochondriale vraie.

Kataoka et de Robertis (1967) et Carlini et Green (1963) ont comparé la localisation subcellulaire d'HA avec celle d'autres éventuels neurotransmetteurs tels que 5-HT et ACh. Il apparait que HA est contenue dans des particules sédimentant plus lentement que celles contenant 5-HT ou ACh, ce qui suggère que les particules contenant HA ont des propriétés de sédimentation différentes de celles contenant les autres amines biogènes. Dans les fractions microsomiales riches en HA du cortex Kataoka et de Robertis (1967) ont observés de nombreuses petites terminaisons nerveuses dans lesquelles HA pourrait être stockée. Kuhar et coll. (1971) ont étudiés la localisation subcellulaire d'HA mais aussi celle de l'histamine-N-méthyltransférase (HMT) par la technique de sédimentation à l'équilibre incomplet. HA semble être localisée, dans toutes les régions du cerveau, surtout dans la fraction mitochondriale brute enrichie en synaptosomes comme en mitochondries libres. Dans la plupart des régions du cerveau la localisation de HA et HMT sont parallèles.

En résumé, l'HA se trouve préférentiellement au niveau des synaptosomes et, semble-t-il, au sein de ceux-ci elle est stockée dans des vésicules synaptiques. Cette situation synap-

.../...

tosomale préférentielle est analogue à ce que l'on observe pour plusieurs autres substances à rôle neurotransmetteur vraisemblable telles que l'ACh, la NA, l'acide Gamma Aminobutyrique, la 5-HT. L'analogie est renforcée quand on considère la localisation subcellulaire de l'enzyme de synthèse (cytoplasme du synaptosome) récemment mise en évidence dans le laboratoire et discutée à la section suivante. Cette analogie suggère évidemment que l'HA comme ces substances pourrait jouer un rôle dans la transmission synaptique. Nous envisagerons au chapitre des variations ontogéniques des taux d'HA, le problème particulier de la localisation nucléaire importante de l'amine chez l'animal nouveau-né.

D. - ONTOGENESE DU SYSTEME HISTAMINERGIQUE DU CERVEAU DE RAT.

Ces études ont été entreprises pour essayer de suivre simultanément les modifications importantes tant structurales que fonctionnelles qui se produisent dans le SNC au cours du développement, et les modifications des taux d'HA et de son métabolisme. En effet des études de ce type sont susceptibles d'apporter quelques éclaircissements sur le rôle fonctionnel d'une substance donnée et en outre, de faciliter l'élucidation des processus biochimiques participant à la régulation de son taux dans le cerveau. Le rat est un animal particulièrement intéressant à cet égard puisque le cerveau est peu développé à la naissance, la myélinisation n'intervenant qu'entre le 12e et le 40e jour après la naissance (Waelch, Sperry et Stoxanoff, 1941). Chez le nouveau-né, les neurones prolifèrent activement et la concentration de la plupart des neurotransmetteurs augmentent en fonction de l'âge. Ainsi, il a été rapporté que, dans le cerveau de rat, les taux de différents médiateurs possibles tels que NA, 5-HT et l'acide gamma aminobutyrique augmentent régulièrement au fur et à mesure de la maturation neuronale.(Karki et coll., 1962; Bennett et Giarman, 1965; Agrawal et coll., 1966). Contrairement à ce qui est observé pour la NA et la 5-HT, le taux d'HA cérébrale à la naissance est 5 fois plus élevé que chez l'adulte (Könnberg et Schwartz, 1969 ; Pearce et Schanberg, 1969). Après un plateau d'une semaine, il diminue régulièrement pour atteindre la valeur de l'adulte au bout de 4-5 semaines.

Néanmoins, les taux d'HA et l'activité de l'histidine décarboxylase (HD) varient de façon opposée au cours de la maturation cérébrale, suggérant que les fluctations du taux de l'amine ne sont pas dues à celles de l'enzyme de synthèse, qui semblent elles, davantage reliées à l'établissement des fonctions synaptiques (Schwartz et coll.1971a), ce processus de synaptogénèse survenant principalement entre le 10e et le 25e jour après la naissance (Aghajanian et Bloom, 1967).

. . . . . .

Boissier (1971) formule l'hypothèse selon laquelle l'HA interviendrait dans la croissance et la maturation cérébrale en facilitant l'apport des éléments nécessaires au développement du tissu cérébral. Kahlson et Rosengren (1968) ont observé que dans les tissus à croissance rapide la synthèse d'HA était souvent très accrue. Très souvent la connaissance de la localisation intracellulaire d'une substance chimique permet d'expliquer sa fonction physiologique. Ainsi Young et coll. (1971) ont étudié la répartition subcellulaire de l'HA dans le cerveau de rat nouveau-né ; entre l'âge de 3 et 13 jours 90 % de l'HA se trouvent dans la fraction nucléaire brute. A partir du 21e jour cette répartition subcellulaire devient sensiblement identique à celle de l'adulte, c'est-à-dire, environ 40 % dans le surnageant, 40 % dans la fraction mitochondriale et 20 % dans la fraction nucléaire.

Quel rôle peut jouer cette HA à localisation nucléaire dans le cerveau des rats nouveaux-nés ?

Snyder et Taylor (1972a) émettent l'hypothèse selon laquelle l'HA, base forte comme les polyamines, jouerait comme ces dernières, un rôle dans la régulation des fonctions des acides nucléiques dans les tissus à croissance rapide. (Tabor et Tabor, 1964).

En résumé les taux d'HA sont élevés dans le cerveau du rat nouveau-né qui ne comporte encore que peu de synapses et elle n'est pas encore localisée dans les synaptosomes mais dans la fraction nucléaire. Ces faits suggèrent un rôle différent pour l'amine cérébrale chez le nouveau-né. Par contre l'évolution de l'activité HD semble être parfaitement parallèle à la synaptogénèse.

E. - EFFETS DE L'HISTAMINE EXOGENE SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL.

Les effets prononcés de l'HA sur la circulation et la respiration rendent difficiles à interpréter les actions centrales qu'elle exerce surtout quand elle est administrée par voie générale. Ces considérations critiques s'appliquent à divers travaux. Ainsi l'HA modifie le tracé EEG chez le rat (Brandon, 1955 ; Bovet et coll., 1958) et stimule le centre vasomoteur chez le chat et le chien (Pilcher et Sollman, 1914-15). Plusieurs auteurs ont observé que l'administration de fortes doses d'HA (jusqu'à 100 mg/kg) provoquait des modifications du comportement et de l'activité électrique cérébrale (Boissier, 1971), vraisemblablement dues aux profondes perturbations vasculaires induites par les injections.

Afin d'éliminer les problèmes de passage de la barrière hémato-encéphalique dont l'existence est fortement suggérée par de nombreux auteurs (Neveu, 1960 ; Adam et coll., 1964 ; Snyder et coll. 1964 ; Schayer et Reilly, 1970 ; Schwartz et coll., 1971a), et les difficultés dues aux actions périphériques d'HA, celle-ci a été administrée par voie intracisternale ou intraventriculaire. Parmi la multitude d'effets qui ont pu être enregistrés après ces injections, on retiendra en particulier : la somnolence, la stimulation parasympathique, l'augmentation de la pression artérielle, la stimulation de la "chemoreceptor trigger zone" et l'hypothermie (Feldberg et Sherwood, 1954 ; Sawyer, 1955 ; White, 1961 ; Bhargava et Dixit, 1968 ; Shaw, 1971).

Afin d'établir si une substance est un médiateur central, de nature soit excitatrice soit inhibitrice, il est non seulement nécessaire que la substance (ou ses précurseurs) soit présentée ainsi que les enzymes nécessaires à sa synthèse et à sa dégradation (Paton, 1958) mais aussi que son application locale entraîne, au niveau du site post-synaptique, des modifications comparables à celles du médiateur libéré dans des condi-

.../...

tions physiologiques. Bien que ceci n'établisse pas de façon certaine que la substance appliquée est identique au médiateur naturel, la production de la réponse post-synaptique appropriée est néanmoins une condition essentielle d'une telle identification (Curtis, 1961). Bon nombre d'auteurs rapportent que l'administration iontophorétique d'HA entraîne des modifications de divers types de décharges neuronales, principalement des décharges spontanées, et les réponses évoquées par différentes stimulations (Curtis et Eccles, 1958 ; Curtis et coll., 1959 : Krnjevic et Phillis, 1963 ; Curtis et Davis, 1962).

Les effets excitateurs ou inhibiteurs dépendent principalement, comme dans le cas d'autres médiateurs, de la localisation du groupe de neurones touchés et de la dose administrée.

Mais; cependant, au moins sur le cortex cérébral du chat, de faibles doses entraînent généralement une hyperpolarisation d'un grand nombre de neurones. Ces actions dépressantes ont été testées sur des neurones excités par le (-) glutamate. L'effet principal sur la décharge neuronale est une réduction marquée de la fréquence et une légère diminution de l'amplitude du potentiel d'action. De fortes doses causent un mélange d'hyperpolarisation et de dépolarisation. Ces effets tant excitateurs qu'inhibiteurs sont antagonisés par les antihistaminiques (Krnjevic et Phillis, 1963 ; Phillis,et coll. 1963). Brezenoff et Lomax (1970) établissent que des microinjections de 1 à 5 µg d'HA, au niveau des centres thermorégulateurs de l'hypothalamus rostral, provoquaient chez le rat une hypothermie abolie par un traitement antihistaminique.

Dans un autre domaine, il a été constaté que d'assez faibles concentrations d'HA induisaient sur des coupes de cerveaux de rat une forte augmentation de la formation d'AMP cyclique (Kakiuchi et Rall, 1968 ; Shimigu et coll. 1970 ; Huang et coll., 1971 ; Forn et Krishna, 1971).

.../...

Si l'on considère ces résultats individuellement rien ne permet de les retenir comme preuves de la fonction de neurotransmetteur de l'HA. Cependant cette hypothèse est renforcée par le fait que l'HA admet des distributions régionale et subcellulaire identiques à celles de médiateurs mieux connus.

F. - DONNEES ACTUELLES SUR LE METABOLISME DE L'HISTAMINE CEREBRALE

1. BIOSYNTHESE ET SA REGULATION

L'HA présente dans les tissus des mammifères y est amenée par la circulation générale ou est synthétisée localement par décarboxylation enzymatique de l'aminoacide, la L-histidine (His). Il est bien connu que relativement peu d'HA cérébrale provient du sang circulant (Snyder et coll., 1964), du fait de l'existence d'une barrière hémato-encephalique pour cette amine, tout au moins aux concentrations physiologiques (Halpern et coll. 1959 ; Snyder et coll. 1966b ; Schwartz et coll. 1971b). La synthèse doit donc se dérouler in situ. La formation d'HA par décarboxylation de l'His. est catalysée par l'HD, enzyme présente dans de nombreux tissus de différentes espèces (pour réf. voir Waton, 1956) ; dans les tissus cérébraux, elle a été démontrée in vitrochez le rat (Schayer, 1956), le chat, le cochon, le chien (White, 1959). La formation in vivo, d'HA radioactive après administration intraventriculaire d'His marquée chez le chat a également été rapportée (White, 1960). Chez le rat, où des études comparatives des différents organes ont été effectuées à l'aide d'une méthode très sensible, la capacité du cerveau à synthétiser de l'HA n'est pas importante en comparaison des très hautes activités dans les tissus embryonnaires (Kahlson et coll., 1958), mais est plus élevée que dans la plupart des tissus d'adultes à l'exception de l'estomac et des poumons (Schayer, 1956).

L'enzyme responsable de la synthèse a été caractérisée. Dans plusieurs investigations (récemment revue par Aures et coll. 1970), il apparait que, dans les tissus des mammifères, deux isoenzymes requérant toutes deux le phosphate de pyridoxal et étant trouvées dans la fraction soluble des cellules sont capables de décarboxyler l'His. in vitro : la décarboxylase des aminoacides L-aromatiques (EC 4.1.1.26) et une HD "spécifique" (EC 4.1.1.22). La décarboxylase non spécifique peut décarboxyler

.../...

la dihydroxyphénylalamine (DOPA) ainsi que le 5-hydroxytryptophane ; elle est inhibée par l'α-méthyl DOPA (Lovenberg et coll., 1962). Dans les homogénats d'hypothalamus de rat, la région à plus haute activité, il a été montré que l'enzyme spécifique est responsable de la biosynthèse d'HA. Cette identification repose sur les résultats de cinétiques (pH optimum de 6,5 et Km de 4. 10^{-4} M) et ainsi que sur l'utilisation d'inhibiteurs (α-hydrazino-histidine et brocresine sont efficaces alors que l'α-méthyl DOPA ne l'est pas) (Schwartz et coll., 1970 ; Taylor et Snyder, 1972a).

Il a été observé que la répartition régionale de l'HA coïncidait assez exactement avec l'activité HD dans les fractions microsomiales et mitochondriales (White, 1964 ; Schwartz et coll., 1970) ceci indique donc que l'HA serait formée au lieu même où elle est dosée. Il existe grosso modo un parallélisme entre la quantité d'amine et l'enzyme de synthèse dans les différentes régions du cerveau : par exemple les valeurs les plus basses sont trouvées dans le cervelet tandis que les plus élevées se situent dans l'hypothalamus. En outre, c'est dans cette dernière région qu'il a été rapporté la vitesse de synthèse la plus élevée, tant dans des expérimentations in vitro qu'in vivo (White, 1959,1960). La similitude des résultats obtenus in vivo et in vitro indique qu'une décarboxylase spécifique dont les propriétés ont été étudiées in vitro, est, en fait responsable de la synthèse de l'HA cérébrale in vivo.

Baudry et coll. (1973b) ont montré, par la technique de centrifugation différentielle que la majeure partie de l'activité de HD est retrouvée dans la fraction brute mitochondriale ainsi que dans la fraction soluble. Une séparation plus poussée de la fraction mitochondriale sur un gradient discontinu de sucrose permet de montrer que l'HD particulaire se trouve dans la fraction synaptosomiale. Un choc osmotique de cette dernière permet, après centrifugation sur un gradient discontinu de retrouver la majeure partie de l'activité d'HD dans le surnageant, suggère ainsi une localisation cytoplasmique de

.../...

l'enzyme dans les terminaisons nerveuses corticales.

La L-His., acide aminé précurseur traverse la barrière hémato-encéphalique. Ce passage répondrait à un mécanisme actif (Battistin et coll., 1971) comme le montre l'inégalité de concentration entre le sang et le cerveau :

La concentration plasmatique en micromole/g :
$P = 0,051 \pm 0,011\ \mu M$

La concentration cérébrale en $\mu M/g$ de tissu frais :
$C = 0,090 \pm 0,011\ \mu M$

Il en résulte un rapport : $C/P \simeq 1,8$. Augmentant par voie intrapéritonéale la concentration sanguine en L-His., il s'ensuit une augmentation de la concentration cérébrale en acide aminé. Mais, pour des concentrations sanguines élevées on assiste à une baisse du rapport C/P qui exprimerait une saturation des systèmes de transport.

Dans la mesure où le taux normal du précurseur amino-acide dans le cerveau de rat est beaucoup plus faible que le Km de l'enzyme il apparaît que la synthèse d'HA n'est pas uniquement fonction de l'activité HD mais également de la concentration d'His. dans le cerveau. Cette observation suggère que la formation d'HA cérébrale doit être augmentée par une administration, par voie générale, d'His. (Schwartz et coll., 1970). Il a été montré que cela est bien le cas puisque des surcharges en His. induisent une élévation rapide et de longue durée de l'HA cérébrale chez le rat (Schwartz et coll., 1972) comme chez la souris (Taylor et Snyder, 1972a). Etant donné que la répartition de l'HA dans de nombreuses régions cérébrales est parallèle à celle de l'HD, l'augmentation absolue du taux d'HA après surcharge en His. doit seulement refléter les variations de densité des unités histaminergiques (probablement des terminaisons nerveuses) dans les différentes aires du cerveau. Par ailleurs, l'étude des effets de la surcharge en His. en présence d'inhibiteurs de décarboxylase permet de vérifier in vivo (Schwartz et coll., 1972) que la formation de l'HA cérébrale

.../...

est bien catalysée par une enzyme spécifique comme il a été montré dans des expériences in vitro (Schwartz et coll., 1970).

De fortes doses d'α-méthyl DOPA et de RO4.4602 inhibent la décarboxylase cérébrale des acides aminés aromatiques comme l'ont montré la détermination de l'activité de cette enzyme in vitro (Burkard,et coll., 1962,1964). Aucun de ces deux agents n'influence le taux d'HA cérébrale et l'élévation induite par injection du précurseur aminoacide. D'un autre côté, la brocrésine et l'α-hydrazino histidine amènent un blocage presque complet de l'effet de la surcharge en His. (Schwartz et coll., 1972). De plus, chacun de ces inhibiteurs administré seul entraine une chute du taux d'HA d'environ 50 % par rapport aux témoins et ce taux reste constant, ensuite,quelle que soit la dose administrée. La demie vie de disparition du "compartiment dépletable" d'HA cérébrale est estimée à environ 5 minutes (Taylor et Snyder, 1971a,b et 1972a). Ainsi, les effets des inhibiteurs de décarboxylation confirment les résultats in vitro révélant que l'HD spécifique est responsable de la formation d'HA cérébrale et indique également qu'une fraction de l'amine se renouvelle rapidement. Chacun de ces deux résultats est compatible avec l'hypothèse d'un rôle de neuromédiateur pour l'HA.

Peu d'auteurs semblent à notre connaissance s'être penché sur cet aspect du problème. Dans les organes périphériques (Kahlson et coll., (1964); Schwartz et coll., (1969) dans l'estomac de rat, émettent l'hypothèse que la synthèse d'HA pourrait être contrôlée par un mécanisme de "feedback", l'HA formée pouvant réprimer HD. Au niveau cérébral, Schwartz et coll. (1972) à la suite de charge en His., observent outre une augmentation du taux d'HA cérébrale, une baisse de l'activité de HD hypothalamique.

A l'appui d'un mécanisme de répression de la synthèse de l'enzyme Schwartz et coll. (1972) ont observé après administration intracisternale de cycloheximide, inhibiteur classique

.../...

de la synthèse protéique une baisse de l'activité HD cérébrale. Cependant, ces modifications d'activité ne s'établissant que lentement, il est peu vraisemblable que le processus joue un rôle physiologique dans la régulation normale de la synthèse de l'HA cérébrale.

2. CATABOLISME

Quelque soit le rôle de l'HA dans le cerveau, il semble nécessaire que quelque processus physiologique mette fin à son action. Par exemple, dans le cas des CA libérées dans les synapses cérébrales, deux processus majeurs semblent intervenir, c'est-à-dire recaptation et dégradation enzymatique (Glowinski et Baldessarini, 1966). En ce qui concerne l'HA, aucun processus de captation spécifique n'a pu être démontré sur coupes de cerveau (Snyder et Taylor, 1972a) suggérant que la dégradation enzymatique doit jouer un rôle majeur dans l'inactivation de cette amine cérébrale.

Voies métaboliques : Dans les tissus périphériques, le catabolisme de l'HA s'effectue principalement par deux voies à présent bien connues :

a) une désamination oxydative directe catalysée par une diamine oxydase (ou histaminase) amenant la formation d'acide imidazole acétique ;

b) une méthylation en méthylhistamine (MHA) suivie d'une désamination oxydative de ce métabolite en acide méthyl-imidazole acétique (Schayer, 1959).

Reilly et Schayer (1970) ont récemment démontré que la contribution relative de chacune de ces voies dans le catabolisme de l'HA non seulement varie d'une espèce animale à l'autre, mais également d'un organe périphérique à un autre. Néanmoins, des résultats contradictoires ont été rapportés à propos de ces voies métaboliques dans le cerveau. White (1960) a rapporté l'absence de formation d'acide imidazole acétique après perfusion du cerveau de chat par l'HA ou l'His. En accord avec ce résultat Burkard et coll. (1963) ne détectent aucune activité de la diamine oxydase dans le cerveau de rat ou d'autres espèces animales.

.../...

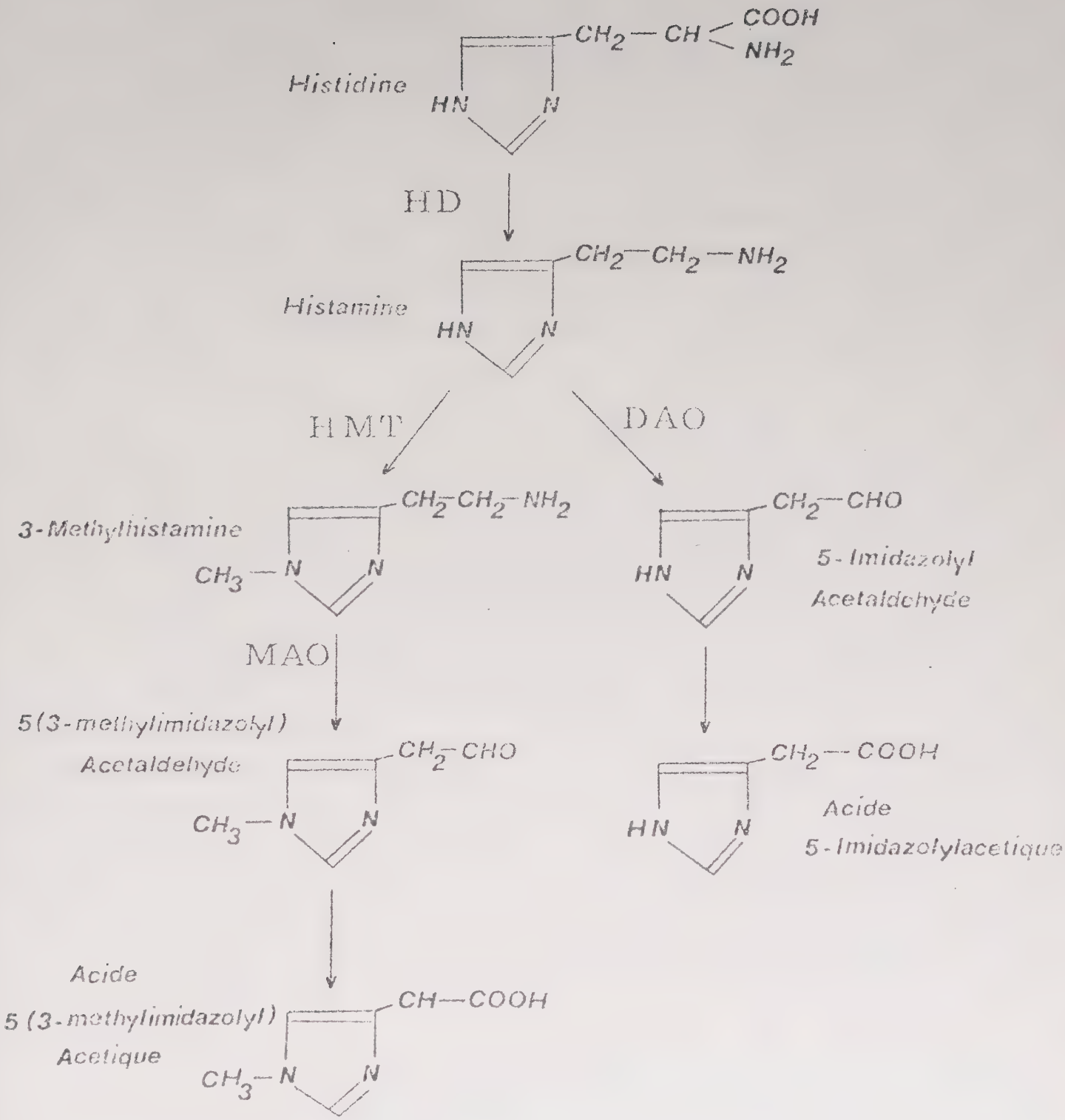


Fig 2-Métabolisme de l'histamine
(principales voies)

Par contre, Snyder et coll. (1966b) ont montré qu'après injection intraventriculaire d'HA-^{3}H, la majeure partie de la radioactivité est retrouvée sous forme d'acide imidazole acétique -^{3}H: cependant, ces auteurs injectent une dose relativement élevée d'HA eu égard à la concentration physiologique de cette amine dans le cerveau et utilisent une méthode imparfaite de séparation des métabolites.

A l'opposé, lorsque des rats reçoivent par voie intracisternale, une dose modérée d'HA-^{3}H (Schwartz et coll, 1971 b) plusieurs éléments montrent que la méthylation de l'HA sur le noyau imidazole constitue la voie principale, sinon unique de catabolisme.

a) Le taux de MHA-^{3}H croît rapidement et excède celui de l'HA-^{3}H au-delà de 30 mn après son administration intracisternale. De plus, lorsque les rats sont prétraités avec de la tranylcypromine, un inhibiteur de la monoamine oxydase dépourvu de propriétés inhibitrices de la diamine oxydase (Burkard et coll, 1962), le taux de MHA-^{3}H représente plus de 70 % de la radioactivité totale alors qu'en même temps, une diminution correspondante des métabolites désaminés -^{3}H est observé.

b) L'analyse par dilution isotopique de l'acide imidazole acétique -^{3}H libre iodique que ce composé, s'il est présent, représente moins de 4 % de la radioactivité totale. De plus, la fraction désaminée -^{3}H (les composés -^{3}H non absorbés sur un faible échangeur de cations) a été analysée plus en détail par chromatographie sur couche mince et il apparaît que le pic de radioactivité possède le même Rf que le témoin d'acide méthylimidazole acétique.

c) L'aminoguanidine, inhibiteur puissant de la diamine oxydase, administrée par voie générale en forte dose ou par voie intracisternale n'entraîne pas de réduction significative du taux de la fraction désaminée -^{3}H. Ainsi, il apparaît que la méthylation sur le noyau imidazole serait le processus majeur de catabolisme d'HA endogène. Cette conclusion a été récemment confirmée par Schayer et Reilly (1975) qui montrent que la méthy-

lation est aussi la voie prédominante sinon unique du catabolisme de l'HA endogène du cerveau.

Ces résultats sont en accord à la fois avec l'absence de diamine oxydase (Burkard et coll., 1963) ou d'histaminase (Beaven et Jacobsen, 1971) dans le cerveau de rat et l'existence d'une forte activité de l'HMT dans la plupart des régions cérébrales de cette espèce (Brown et coll., 1959). La prédominance de la méthylation de l'HA cérébrale a été rapportée chez le chat (White, 1960) et plus récemment chez la souris (Reilly et Schayer, 1970) mais elle n'a pas été soupçonnée chez le rat puisque dans les organes périphériques de cette espèce, le catabolisme de l'HA s'effectue presque exclusivement par désamination oxydative directe (Schayer, 1959).

Axelrod et coll. (1961) ont étudié la répartition régionale de l'enzyme méthylante (HMT). L'activité de cette enzyme est la plus élevée au niveau hypothalamique et la plus basse au niveau cerebelleux. Par ailleurs, l'HMT cérébrale est localisée principalement dans la fraction soluble surnageante (Brown et coll. 1959) mais il semble qu'une fraction de l'HMT est localisée dans les synaptosomes (Mahar et coll. 1971).

La MIA formée est rapidement oxydée en acide méthylimidazole acétique. L'enzyme impliquée dans cette transformation est une monoamine oxydase comme le suggère l'inhibition de cette dernière réaction par la tranylcypromine.

Ainsi formé, l'acide méthyl imidazole acétique quitterait le cerveau soit par simple diffusion, soit en utilisant un système de transport actif différent de celui qui intervient dans la sortie de l'acide homovanillique ou de l'acide 5-hydroxyindolenacétique, puisque le probénécide est dépourvu d'effets (Schwartz et coll., 1971b). Ce manque d'effet peut être interprété par un ajustement compensatoire de la synthèse d'HA, ou encore par l'existence de processus d'inactivation autres que la méthylation sur le noyau imidazole. (Cooper et coll., 1973a).

.../...

3. VITESSE DE RENOUVELLEMENT

Cette étude a été abordée particulièrement par Taylor et Snyder (1971b) et par Schwartz et coll. (1972) en utilisant des inhibiteurs de l'HD et en suivant la vitesse de déplétion cérébrale de l'amine. A des doses supérieures ou égales à 200 mg/kg par voie intrapéritonéale l'alphahydrazinohistidine ou la brocresine (N.S.D. 1055) provoquent une baisse rapide du taux d'HA hypothalamique. Quelle que soit l'importance de la dose de l'inhibiteur administré, la déplétion ne peut excéder un taux de 40 % de l'HA endogène totale. Ceci suggère qu'il y a un compartiment d'HA résistant aux inhibiteurs de synthèse. Lorsque la phase initiale de décroissance de l'HA hypothalamique après l'alphahydrazinohistidine ou la brocresine est portée sur une échelle semi-logarithmique, la demi-vie pour l'HA du compartiment déplétable peut être estimée à environ 5 mn. Taylor et Snyder (1971b) font remarquer que ce turn-over apparemment rapide de l'HA est du même ordre de grandeur que celui calculé pour l'ACh dans le cerveau de rat par Schuberth (1969) tandis que celui de la NA, de la 5-HT ou de la DA est beaucoup plus lent (30 mn à 3 h).

Le fait que 40 % seulement de l'HA hypothalamique soient déplétables suggère que ces 40 % représentent le compartiment fonctionnel, et qu'à côté de lui existe un compartiment de réserve à vitesse de renouvellement plus lente. A un turn-over rapide correspond habituellement un compartiment de réserve réduit, c'est du moins ce qui est admis pour l'ACh. Taylor et Snyder (1971b) suggèrent que l'HA, présente dans le cerveau à des taux inférieurs (environ 10 fois moindres), à ceux des CA ou de la 5-HT mais qu'il existe peut-être des quantités absolues identiques de ces amines dans les compartiments fonctionnels

G. - CONCLUSION : L'EVENTUALITE D'UN ROLE DE NEUROMEDIATEUR DE L'HISTAMINE CEREBRALE

Avec les méthodes dont nous disposons actuellement, il est presque impossible d'établir avec rigueur qu'une substance a un rôle de médiateur dans le cerveau. Pour cela, il faudrait mettre en évidence la libération de ce médiateur supposé à une synapse particulière du SNC et démontrer qu'à cette synapse l'application de la substance mime les actions du médiateur naturel, ce qui présente des difficultés techniques évidentes.

Pour l'HA, si son rôle à la périphérie est pour l'instant très mal connu, les données récentes sur l'HA cérébrale suggèrent qu'elle joue un rôle analogue à celui des CA et de la 5-HT. Nous regrouperons ici les arguments qui plaident en faveur d'un tel rôle :

1) HA est présente dans le cerveau de nombreuses espèces avec les enzymes spécifiques pour sa synthèse et son catabolisme.

2) Dans le cerveau de rat l'HA est distribuée de façon non uniforme avec la plus haute concentration dans l'hypothalamus et la plus basse dans le cervelet (Rönnberg et Schwartz, 1969). Sa répartition est assez parallèle à celle d'autres substances à rôle médiateur certain (NA et 5-HT). "La distribution inégale d'une substance active pharmacologiquement dans le cerveau suggère fortement que l'agent joue un rôle dans la fonction spécialisée des régions où sa concentration est grande" (Vogt, 1959).

3) Une partie au moins de l'HA cérébrale a une vitesse de renouvellement rapide, comparable à celle de l'ACh.

4) Lorsqu'elle est appliquée iontophorétiquement sur des neurones cérébraux, elle induit des modifications variables

.../...

dans la transmission synaptique.

5) Le meilleur argument en faveur du rôle neurotransmetteur de l'HA ressort des études relatives au fractionnement subcellulaire. Ces études montrent que l'HA est associée aux fractions riches en synaptosomes, faisant penser que "in vivo", elle peut être localisée au niveau des terminaisons nerveuses ; les résultats obtenus après choc osmotique montrent la présence d'HA dans les vésicules synaptiques du cortex de cerveau de rat (Kataoka et de Robertis, 1967). L'enzyme synthétisant l'amine semble, lui aussi, localisé dans les terminaisons nerveuses, mais, au sein de ces dernières, il semble confiné au cytoplasme. Une telle situation tant pour l'amine (vésicules synaptiques) que pour l'enzyme-clé de sa synthèse (cytoplasme des terminaisons) est retrouvée dans le cas de l'ACh (Feldberg, 1970), de la NA (Knapp et Mandell, 1972) ou de la 5-HT (Kuczenski et Mandell, 1972).

Cette analogie est évidemment fortement suggestive d'un rôle fonctionnel similaire pour les amines en question.

NEPHROLOGIE

Dans ce travail ont été faites des lésions électrolytiques (afin de toucher des faisceaux bien précis) ou des sections mécaniques "au couteau" (afin de sectionner le cerveau a différents niveaux). Les effets neurochimiques qui en résultent furent analysés biochimiquement.

Pour en facilité la description, ce chapitre sera divisé en 3 grands paragraphes :

I Méthodes physiologiques
II Histologie
III Méthodes biochimiques.

I METHODES PHYSIOLOGIQUES

Nous avons choisi des rats mâles adultes de souche Sprague-Dawley d'un poids voisin de 250 g, afin d'utiliser les coordonnées neuroanatomiques fournies par les cartes du cerveau de rat établies par Albe-Fessard et coll. (1966). Les animaux sont gardés dans une animalerie à température constante (22 ± 2°C) et éclairement programmé (12h-12h). Dans tous les cas, ils ont été anesthésiés légèrement à l'éther.

A. LESIONS :

Les animaux préalablement anesthésiés à l'éther sont placés en contention dans un appareil stéréotaxique de Horsley-Clarke. Après incision longitudinale de la peau du crâne au scalpel, puis trépanation à l'aide d'une fraise de dentiste de 1,5 mm à l'endroit voulu, une électrode d'acier inoxydable de 0,6 mm de diamètre ou un couteau (3 mm de largeur) est amené aux coordonnées stéréotaxiques choisies d'après l'atlas et éventuellement quelque peu modifiées après une étude histologique, afin d'être adaptées aux animaux utilisés.

1) Par électrocoagulation

Nous avons effectué des lésions électrolytiques par la technique d'électrocogulation en courant continu. Un électrocoagulateur continu à intensité de sortie constante régulée a été branché sur les électrodes. Un courant continu, direct et anodal de 2-3 mA a été appliqué pendant 20 secondes pour les lésions.

2) Par section

Des sections mécaniques du cerveau ont été faites au niveau suprachiasmatique, avec une spatule assez coupante de 3 mm de large. Plusieurs essais avaient été faits au préalable avec différents matériaux (scie à ampoule par exemple); cependant il se produisait alors une importante hémorragie ou une compression mécanique du cerveau. Finalement nous avons choisi d'utiliser une spatule suffisamment aiguisée. Aussi bien après électrocoagulation que section, la région trépanée est refermée avec de la cire de Horsley (les laboratoires Bruneau et Cie) pour hémostase osseuse et la peau suturée à l'aides d'agrafes.

B. DISSECTION :

Après une attente plus ou moins longue après lésion, les animaux sont tués par décapitation et le cerveau prélevé avec précaution est disséqué sous une loupe dans une enceinte réfrigérée (- 4° C). Le cerveau de rat avec lesion unilatérale est coupé en deux parties suivant le sillon interhémisphérique. Les cerveaux (ou hémicerveaux) ont été disséqués en 7 régions suivant la méthode décrite en détails par Glowinski et Iversen (1966). Ces régions sont désignées par les termes conventionnels suivants : 1) cervelet, 2) tronc cérébral -correspondant au bulbe et au pont, 3) mésencéphale -comprenant non seulement le mésencéphale mais aussi le thalamus et le subthalamus, 4) corps striés - renfermant le putamen, le noyau caudé et le pallidum,

.../...

5) hypothalamus, 6) Hippocampe, 7) Cortex -qui correspond à l'ensemble de la substance grise et de la substance blanche du télencéphale moins les "corps striés".

Tout d'abord, le cerveau prélevé est divisé en deux parties par une transection frontale faite en avant du pont permettant ainsi, de séparer le tronc cérébral. L'hypothalamus est disséqué par la face ventrale du cerveau. Dans certains cas, il est disséqué en trois parties (figure 3). Il est limité antérieurement par le chiasme optique et postérieurement par les corps mamillaires. En avant, la commisure antérieure le limite en profondeur. Afin de séparer les trois aires, on pratique, à l'aide d'une lame de rasoir, une première section frontale à l'avant de l'infundibulum : on obtient ainsi une partie antérieure qui renferme l'aire pré-optique. La deuxième section est pratiquée à la limité postérieure de l'infundibulum et sépare la partie moyenne, correspondant à l'aire tubérienne, de la partie postérieure, qui renferme principalement les corps mamillaires. Dans le cas des animaux ayant eu des sections unilatérales, l'hypothalamus est d'abord disséqué en deux longitudinalement, au centre de l'éminence médiane avant d'être séparé en 3 parties comme précédemment. Après cela, mésencéphale, hippocampe, corps strié et cortex ont été disséqués à l'aide de baguettes à dissection en verre.

La bonne reproductibilité des dissections ainsi effectuées est indiquée par les faibles écarts de poids enregistrés d'une expérience à l'autre.

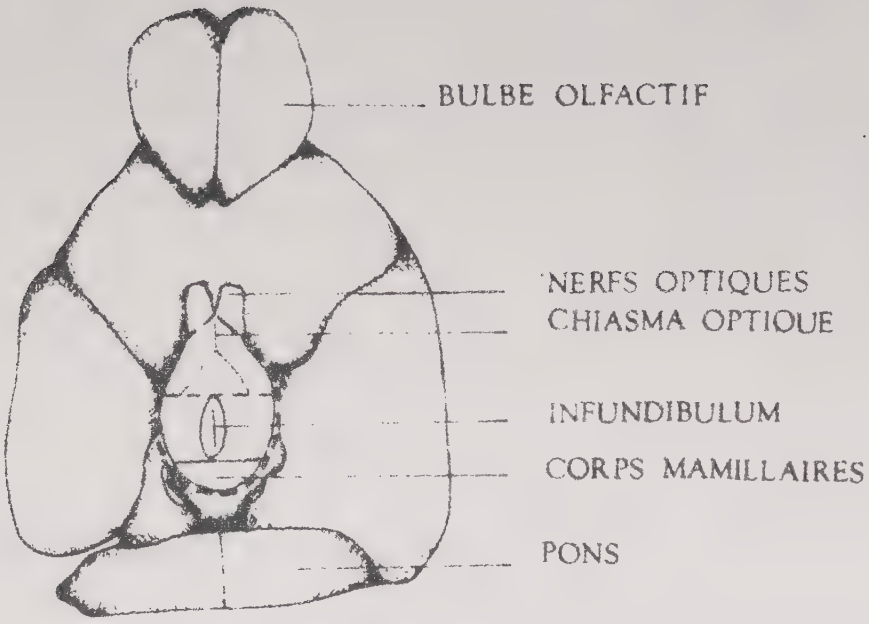


Fig.3- Cerveau de Rat Adulte
Vue Ventrale X 5
d'apres CRAIGIE's Neuroanatomie
of the rat, 1963, p. 23

II HISTOLOGIE

Les animaux sont choisis au hasard pour effectuer un contrôle histologique du site de lésion. Le cerveau est fixé au formol neutre salé à 10 % et à l'aide d'un microtome à congélation découpé en tranches successives de 100 μ, soit frontales soit sagittales, selon le cas. Les coupes sont alors colorées par la coloration classique à la thionine ($1/_{oo}$) pour la localisation topographique des lésions. Dans certains cas, afin de mettre en évidence les faisceaux touchés par lésions ou sections, les coupes sont colorées par la méthode de Klüver et Barrera.

III METHODES BIOCHIMIQUES

A. DOSAGE SPECTROFLUORIMETRIQUE DES AMINES

1) Isolement chromatographique des amines

Une résine amberlite CG 50 a permis d'isoler simultanément les trois amines (NA, 5-HT, HA). Alors que les deux premières seront évaluées directement de l'éluat par fluorimétrie, l'HA doit être préalablement isolée sur une seconde résine, la cellex P.

Les différentes régions du cerveau sont pesées et homogénéisées à l'aide du polytron dans généralement 5 volumes de l'acide perchlorique 0,4 N contenant de l'acide ascorbique et de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) pour empêcher l'oxydation des monoamines. Le polytron est rincé 2 fois avec de l'acide perchlorique 0,4 N, et les lavages ajoutés à l'homogénat. La défécation est complète au bout de 15 à 30 mn et les extraits sont centrifugés pendant 15 mn. A un aliquote de 5 ml du surnageant on ajoute 1 ml de tampon phosphate 0,01 M (pH 6,0) et on ajuste à pH 6,0 avec KOH. On ajoute ensuite de l'eau distillée jusqu'à un volume final de 10 ml que l'on laisse à 4° C pendant une nuit afin de permettre la précipitation du $KClO_4$. Le lendemain, 100 μl d'EDTA (2%) et 50 μl d'acide ascorbique (5%) ainsi que l'HA-^{3}H (à peu près 50 000 cpm) sont ajoutés aux extraits. Après agitation au vortex et centrifugation les extraits sont passés sur colonne

.../...

d'amberlite CG 50 (2,5 x 0,6 cm) préalablement lavés par 5 ml de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,1). Après le passage des extraits, les colonnes sont lavées avec 6 ml d'eau distillée avant d'être éluées par de l'acide acétique 0,2 N (5 ml) afin de recueillir les 3 amines (5-HT, NA et HA).

L'isolement de l'HA à partir de l'éluat acétique se fait sur une prise aliquote de 3,5 ml que l'on amène à pH 6,0 par addition de soude et aussi par adjonction de 1 ml de tampon phosphate 0,01 M (pH 6,0). Les volumes finaux sont amenés à 20 ml par de l'eau distillée puis les extraits sont passés sur colonne cellex-P (7 mm x 40 mm) tamponnée à pH 6,0 . Ensuite les colonnes sont lavées par 10 ml d'eau distillée et l'on ajoute ensuite 2 ml de NaCl à 0,2 M avant l'élution finale par 5 ml de NaCl 0,2 M. Les rendements des colonnes sont déterminés individuellement dans le cas de l'HA (surcharge d'une dose traceuse d'HA-^{3}H et après surcharge de quelques échantillons dans le cas des monoamines).

2) Dosage fluorimétrique de la Noradrénaline

Ce dosage est basé sur la transformation de la NA en un dérivé fluorescent trihydroxyindole. L'agent oxydant est le ferricyanure de potassium et l'oxydation se fait à pH 6,5. Le dérivé formé est stabilisé en milieu alcalin grâce à l'action réductrice de l'acide ascorbique. Mais l'acide ascorbique étant lui-même fluorescent à ce pH il est nécessaire d'ajouter de l'éthylène diamine qui supprime cette fluorescence.

Technique :

Le dosage fluorimétrique de la NA se fait sur une fraction aliquote de 0,5 ml de l'éluat acétique de la colonne d'amberlite auquel on ajoute 50 µl de $ZnCl_2$ à 1,25 °/$_{oo}$ en solution acétique 0,2 N et 300 µl de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,5) contenant 17 g °/$_{oo}$ de KOH. Ensuite on ajoute 25 µl de ferricyanure de potassium (0,25 %), et 3 mn après 500 µl du mélange

.../...

suivant :

Hydroxide de Sodium (5 N) - 9 volumes
Ethylène diamine -0,2volume
Acide Ascorbique (2%) - 1 volume

Les blancs sont faits de la même manière en omettant l'acide ascorbique dans le mélange. Toutefois pour garder les mêmes conditions de dosage l'acide ascorbique est rajouté 15 mn après l'addition du mélange. La longueur d'onde de fluorescence étant de 500 mμ et celle d'excitation de 395 mμ.

3) Dosage fluorimétrique de la sérotonine

La condensation du noyau 5-Hydroxyindole avec l'ortho-phtal dialdéhyde (OPT) conduit à la formation d'un composé spécifique fluorescent en lumière ultra-violette (Korf et Van Praag, 1971). En présence de cystéine la fluorescence de la 5-HT augmente de 4 fois (Curzon et Green, 1970).

Technique :

A 0,7 ml de l'éluat d'amberlite sont ajoutés 50 μl de cystéine (1%) 0,7 ml d'acide chlorhydrique fumant et 50 μl d'une solution méthanolique d'OPT à 0,1%. La température du mélange est ensuite amenée à 95° C à l'aide d'un bain-marie bouillant pendant 10 mn. Après refroidissement, la solution est versée dans une cuve d'un spectrophotofluorimètre. L'excitation à 360 mμ donne naissance à une émission de fluorescence à 485 mμ dont l'intensité est proportionnelle aux quantités de 5-HT dans la gamme de concentration.

4) Dosage fluorimétrique de l'histamine

L'HA dans les tissus animaux a été mesurée par une variété de techniques biologiques et chimiques. Le dosage fluorimétrique de Shore et coll., (1959) basé sur la condensation avec OPT est sensible et spécifique pour la plupart des tissus sauf le cerveau car la spermidine vient interférer dans le

.../...

dosage (Kremzner et Pfeiffer, 1965; Michaelson et Coffman, 1967). Ils ont montré que la spermidine pouvait être séparée de l'HA par colonne de cellulose phosphorylée. C'est cette méthode, essayée par Médina et Shorel (1966), qui a été employée avec de légères modifications (Schwartz et coll. 1970) dans le présent travail.

Technique :

A 2 ml de l'éluat obtenu à partir de la Cellex-P on ajoute 0,5 ml de NaOH (0,4 M) suivi par 100 µl de OPT (0,1 %). Après avoir attendu 4 mn après l'addition d'OPT 500 µl d'acide citrique (2M) sont additionnés. Ensuite une quantité adéquate de la solution est passée au spectrophotofluorimètre dont la longueur d'onde d'excitation est de 350mµ et celle de l'émission de fluorescence est de 435 mµ Parallèlement des blancs réactifs et des solutions étalons d'HA sont traités et dosés dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en ng d'HA par g de tissu frais après correction selon le pourcentage de récupération calculé d'après l'étalon interne d'HA-^{3}H.

B. DOSAGE DE L'HISTAMINE PAR METHODE RADIOENZYMATIQUE

1) Principe

Des améliorations du dosage fluorimétrique (séparation de la spermidine avant de faire la réaction de fluorescence) ont beaucoup augmenté la spécéficité du dosage mais l'ont aussi rendu beaucoup plus long (Kremzner, 1966; Médina et Shore, 1966). Par contre le dosage radioenzymatique ne nécessite aucune purification préalable des extraits tissulaires, et est de plus rapide et relativement simple (Taylor et Snyder, 1971a; Snyder et Taylor, 1972a,b). Récemment une modification de ce dosage permit d'améliorer la sensibilité de ce dosage et de mesurer 10 pg d'HA cérébrale (Taylor et Snyder, 1972b). La technique est basée sur le transfert

.../...

enzymatique du méthyl-^{3}H de la S-adénosyl méthionine-^{3}H (SAM-^{3}H) sur l'HA tissulaire pour former de la MHA-^{3}H; La SAM endogène est détruite par chauffage et il n'y a donc pas de dilution de la SAM-^{3}H. L'enzyme HMT entrant en jeu dans la réaction est très spécifique d'HA (Brown et coll., 1959). Le blanc de réaction, qui consiste en une extraction par le chloroforme du tritium de SAM-^{3}H est d'environ 0,25 °/$_{oo}$ La sensibilité accrue du dosage d'HA a donc facilité les recherches sur HA cérébrale. C'est ainsi que la localisation d'HA dans un grand nombre de noyaux cérébraux a pu être faite chez le singe (Taylor et coll., 1972). Cette microméthode a pu être étendue au dosage de l'His et des activités HD et HMT en un dosage combiné à partir d'un même échantillon cérébral. Cependant cette technique n'était pas encore assez sensible au début de ce travail, mais nous l'avons utilisée dès que possible, après avoir apporté nous-mêmes quelques modifications à la technique originale de Taylor et Snyder (1972b).

2) Dosages

Après dissection, les différentes régions du cerveau ont été pesées et homogénéisées dans 10 volumes de tampon phosphate 0,01 M pH 7,9 glacé, à l'aide d'un polytron ou d'un générateur d'ultrasons selon les cas. Des fractions aliquots d'homogénats ont été délégrées à 95° C pendant 10 mn afin de détruire la SAM endogène et de libérer l'HA liée, puis ont été refroidies et centrifugées 2 mn. C'est sur les surnageants qu'on été faits les dosages d'HA. Les dosages ont été pratiqués en utilisant l'ensemble microanalytique Eppendorf. Un des avantages de cet ensemble réside dans l'emploi de tubes à réactions et de pointes de micropipettes à usage unique, éliminant ainsi de nombreux risques de contamination.

Le milieu d'incubation consistait en :
10 µl de surnageant déféqué
5 µl de la préparation d'HMT (Brown et al, 1959)
5 µl de SAM-^{3}H (0,1 µCi)
10 µl de tampon phosphate 0,1 M pH 7,9

.../...

Les mélanges ont été incubés à 37° C pendant 20 mn et les réactions arrêtées par addition de 5 µl d'acide perchlorique 2,4 N. Le milieu a été ensuite alcalinisé par 10 µl de NaOH 3N et saturé en sel par du chlorure de sodium. Puis MHA-^{3}H formée a été extraite par 250 µl de chloroforme. La phase aqueuse surnageante a été éliminée et la phase organique lavée par 100 µl de NaOH 1N qui sont ensuite éliminés. 100 µl de la phase organique contenant MHA-^{3}H, sont alors évaporés directement dans des flacons en plastique, par passage de 10 mn dans une étuve à 70° C. La MHA-^{3}H restant au fond des flacons est ensuite remise en solution dans 1 ml d'eau distillée et le tritium est mesuré à l'aide d'un compteur Intertechnique à scintillation liquide. Chaque dosage a été fait en double.

La composition du liquide scintillant est la suivante :

1,4-Di 2-(5-phenyloxazolyl) benzene (POPOP) : 450 mg
2,5-Diphenyloxazole (PPO) : 16,5 g
Triton x - 100 : 1 l
Toluène : 2 l.

En même temps que chaque série de dosages, deux concentrations différentes d'HA sont incubées avec ou sans homogénat. L'HA ainsi ajoutée est retrouvée à 92-96 % sous forme de MHA-^{3}H et il y a une relation linéaire entre le taux d'HA non marqué et la MHA-^{3}H formée enzymatiquement pour des concentrations d'HA comprises entre 0,01 et 2,0 ng. Avec ou sans extraits tissulaires, une quantité d'HA aussi faible que 0,01ng donne une valeur 2 fois supérieure au blanc.

C. DETERMINATION D'ACTIVITES ENZYMATIQUES

1) Histidine décarboxylase

L'activité de l'HD est mesurée par la méthode radioenzymatique de Taylor et Snyder (1972b).

a- Dosage radioenzymatique :

L'HA synthétisée à partir d'His ajoutée est mesurée

.../...

après sa transformation en MHA.

Le milieu de réaction consistant en 10 µl d'homogénat de cerveau, 5 µl d'His non radioactive ($5x10^{-2}$ M) et 40 µl de tampon phosphate de sodium 0,05 M (pH 6,5) est incubé dans des microtubes à 37° C pendant 90 mn. Des blancs sont obtenus soit en chauffant le mélange réactionnel pendant 10 mn à 95°, soit en remplaçant l'homogénat par 10 µl de tampon 0,01 M (pH 7,9).

La réaction est arrêtée en portant les microtubes à 95° pendant 10 mn. Puis les mélanges sont refroidis et centrifugés 2' mn et 10 µl de NaOH 0,1 N sont ajoutés pour le dosage d'HA. HA est ensuite dosée, comme cela a déjà été décrit, dans 20 µl du surnageant de la fraction ci-dessus. Des standards internes de 100 à 200 pg d'HA anthentique sont ajoutés aux tissus bouillis qui constituent les blancs. Dans cet essai, comme cela a été rapporté par Schwartz et coll. (1970), le pH optimum de l'activité HD est pH 6,5, lorsque la concentration d'His dans le milieu d'incubation est 10^{-2}M. Cette concentration donne la vitesse maximale de réaction qui est linéaire entre 5 mn et 120 mn.

b- Dosage radio-chromatographique

Au cours des expériences il est apparu que, dans certains tissus cérébraux, l'activité de l'enzyme était trop faible pour permettre une détermination précise. Depuis, la méthode radio-chromatographique (Baudry et coll., 1973b) a été utilisée de préférence.

Principe :

L'activité HD est estimée en mesurant la quantité d'HA-^{3}H (en termes de radioactivité) formée à partir de ~~bas-~~ses concentrations d'His hautement marquée et incubée en présence des extraits de tissu.

Le milieu d'incubation (70 µl) consiste en l'His-^{3}H (5 µCi) purifiée par 2 passages sur une microcolonne d'amber-

lite (2,5 cm de hauteur ; pH 8,0) pour éliminer la contamination par l'HA, en pyridoxal 5' phosphate (10^{-5}M), en 50 µl d'extraits de tissu et en tampon phosphate 0,05 M (pH 6,5). Le mélange est incubé 90 mn à 37°C et la réaction est arrêtée par 10 µl d'acide perchlorique 3,2 N. Les blancs sont obtenus soit en substituant 50 µl de solution tampon aux extraits de tissu soit par addition de l'acide perchlorique avant l'incubation. Des valeurs similaires sont obtenues dans les deux cas. Le pH du milieu réactionnel est ensuite ajusté à pH 8,0 par addition d'un mélange de 1 ml de tampon tris 0,05 M (pH 8,0), 100 µl de chlorhydrate d'His non radioactive (10 mg), 200 µl de KOH 0,4 N et 8,7 ml d'eau bidistillée.

Les amines tritiées formées par la réaction ci-dessus sont isolées sur une colonne d'amberlite CG-50 (pH 8,0) de 4 cm de hauteur comme suit : les solutions sont passées sur colonnes d'amberlite, qui sont alors lavées deux fois par HCl 0,01 N. Les amines sont enfin éluées par 2 ml d'acide acétique 1 N directement dans les flacons de comptage. 12 ml de liquide à scintillation sont ajoutés et la radioactivité est comptée dans un spectromètre à liquide de scintillation Intertechnique SL-30. L'avantage de cette méthode sur la précédente réside dans la plus faible valeur du blanc et dans sa reproductibilité puisqu'il est indépendant du taux d'HA endogène.

2) Histamine méthyltransférase (HMT)

Principe :

L'activité de l'HMT est évaluée par la mesure de la MHA-^{14}C, la SAM-^{14}C servant de donneur de méthyl.

Dosage :

L'activité de l'HMT est mesurée par le procédé modifié de Taylor et Snyder (1971b) 10 µl d'homogénat de tissu cérébral non déféqué, 5 µl d'HA (concentration finale : $1,5\ 10^{-5}$M), 5 µl de SAM-^{14}C (0,5 µCi) et 10 µl de tampon phosphate 0,05 M (pH 7,9) sont incubés dans des tubes microtest à

.../...

37°C pendant 20 mn. La réaction est arrêtée par 5 µl d'acide perchlorique 2,4 N. Les blancs sont préparés en remplaçant l'HA par une solution tampon. La MHA formée est extraite et estimée par le procédé déjà décrit dans le dosage d'HA. L'activité de l'HMT est exprimée en µmoles de MHA-^{14}C, par g de tissu et par H.

3) Déshydrogènase lactique

Il a déjà été rapporté que la forme particulaire de déshydrogénase lactique (LDH) était un marqueur de la fraction soluble du cytoplasme (Johnson et Wittaker, 1963 ; Rodriguez de Lores Arnaiz et de Robertis, 1964). Aussi, la mesure de l'activité LDH dans notre travail a été choisie pour contrôler la reproductibilité de notre fractionnement subcellulaire.

Principe :

LDH catalyse la réduction du pyruvate par la nicotinamide adénine dinucléotide ($NADH_2$). Le dosage de l'activité LDH d'extraits de cerveau est effectué en mesurant par une méthode optique la vitesse d'oxydation de $NADH_2$ (Bernberg, 1955).

Dosage :

Le milieu d'incubation consiste en 0,3 ml de pyruvate 6.10^{-4} M, 5 µl de $NADH_2$ 8.10^{-3} M et 10 à 20 µl d'extrait de cerveau, dans un volume final de 3 ml de tampon phosphate 0,05 M (pH 7,5). La densité optique est mesurée à 25°C, à l'aide d'un spectrophotofluoromètre (Aminco Bowman), à une longueur d'onde d'excitation de 340 mµ et d'émission de 456 mµ. Dans ces conditions, la décroissance de la fluorescence en fonction du temps est linéaire pendant au moins 2 mn. L'activité de l'enzyme est exprimée en µmoles de $NADH_2$ transformées en 1 h par g de tissu frais.

D. FRACTIONNEMENT SUBCELLULAIRE

Le procédé de fractionnement subcellulaire est appliqué sur plusieurs tissus cérébraux afin de déterminer la distribution d'HA et d'HD dans différentes fractions et de comparer leur répartition chez des animaux témoins et lésés.

Les tissus du cerveau sont disséqués, pesés et homogénéisés dans du sucrose isotonique 0,32 M (environ 10 % Pds/vol.) à l'aide d'un homogénéiseur en téflon et verre braun (clearance de 0,10-0,15 mm), à 15 000 tours par mn, pendant 90 sec. Afin de standardiser les conditions, environ 200 mg de tissu sont pris pour chaque région. Dans certains cas, les tissus de plusieurs animaux sont groupés (cas de l'hypothalamus, du striatum et de l'hippocampe). Puis les homogénats sont séparés par centrifugation différentielle selon le procédé de Whittaker et coll., (1964) en fractions nucléaire brute (P_1), mitochondriale brute (P_2) et surnageante (S).

1 ml d'homogénat est centrifugé dans une ultracentrifugeuse (rotor type 40) à 3 000 g (6000 rpm) pendant 3 mn. Le précipité P_1 (noyaux, débris cellulaires) est suspendu dans 1 ml de sucrose 0,32 M. Le surnageant est centrifugé à 10 000 g (10 000 rpm) pendant 20 mn. Le précipité obtenu P_2 (mitochondries, synaptosomes, petits fragments de myéline et quelques ribosomes) est également resuspendu dans 1 ml de sucrose 0,32 M. Le surnageant S_1 restant (microsomes, quelques petits synaptosomes et mitochondries) est pesé afin d'introduire un facteur de correction de volume dans les calculs.

Afin de rompre les enzymes couplés, toutes les fractions sont soniquées (pendant 2 fois 30 sec.) avec un générateur à ultra-sons (Annemasse, France).

E. DOSAGE DE PROTEINE

Les contenus en protéines des différentes régions du cerveau sont déterminés par la méthode de Lowry et coll., (1951).

Une prise correspondant à environ 1 mg de tissus est diluée à 1 ml. En parallèle, une série de solutions standard de sérum albumine cristalline de boeuf de 0 à 160 µg/ml est préparée. On ajoute alors, à tous les tubes, 5 ml d'une solution de réactif préparé extemporanément en mélangeant 3 solutions dans les proportions 100 : 1 : 1.:

1. solution de carbonate de sodium à 2 % dans de la soude 0,10 N, préparée extemporanément.
2. solution de sulfate de cuivre ($CuSO_4, 5H_2O$) à 1 %.
3. solution de tartrate de sodium ou de potassium à 2 %.

10 mn après l'addition des réactifs ci-dessus, 500 µl du réactif phénolique Folin sont ajoutés rapidement et les solutions sont agitées dans les 2 sec. qui suivent. Un délai de quelques sec. dans le mélange des solutions dosées et du réactif de Folin, diminue l'intensité de la coloration. 40 mn après l'addition du réactif au premier tube, l'absorption est mesurée à 750 mµ dans un spectrophotomètre (Gilford, modèle 240, laboratoires Inc., Oberlin, Ohio, U.S.A.), puis convertie en µg de protéines par rapport à la gamme établie. Le taux de protéines est exprimé en µg par g de tissu frais, et il permet de contrôler la reproductibilité de la dissection en trois régions de l'hypothalamus.

C H A P I T R E I

EFFET DE LESIONS DU FAISCEAU MEDIAN DU TELENCEPHALE SUR L'HISTAMINE CEREBRALE

L'HA cérébrale présente de nombreux éléments de comparaison avec les autres amines biogènes. Aussi, comme la distribution régionale de l'HA est grossièrement similaire à celle de la 5-HT et de la NA, nous avons recherché la présence éventuelle de fibres histaminergiques dans le FMT -faisceau connu pour contenir la majorité des fibres cérébrales sérotoninergiques et noradrénergiques qui se dirigent vers le diencéphale et le télencéphale- sachant que, si tel était le cas, la dégénérescence induite par lésion électrolytique, provoquerait une réduction appréciable du taux de l'HA.

A. RAPPEL ANATOMIQUE

Ce faisceau constitue un système de fibres (afférences, efférences et interconnections) important de l'hypothalamus. A partir des tubercules olfactifs, ses fibres, peu ou non myélinisées, traversent la base du télencéphale, longent l'hypothalamus latéral pour s'étendre dans le mésencéphale. Ce tractus contient aussi bien des fibres issues de plusieurs centres du rhinencéphale et descendant vers des noyaux hypothalamiques que des fibres ascendantes issues des noyaux tegmentaux et de la formation réticulée.

De plus, le FMT relie entre elles différentes parties de l'hypothalamus. Enfin, il contient des fibres efférentes qui vont des divers noyaux hypothalamiques, antérieurs, latéraux et postérieurs, vers le mésencéphale, le rhombencéphale et la moelle épinière, avec lesquels ils forment des connexions sympathiques et parasympathiques (Zeman et Maitland Jones, 1963).

L'utilisation des méthodes de révélation des monoamines par histofluorescence a fortement contribué à la connaissance de la morphologie de ce faisceau. Des voies ascendantes monoaminergiques dans le cerveau de rat ont été démontrées par l'accumulation de matériel fluorescent dans les axones après différents types de lésions, loin de leur terminaison/origine

.../...

naisons ont été déterminées par l'étude des dégénérescences antérogrades et rétrogrades après des lésions localisées (Ungerstedt, 1971). Elles sont figurées sur la section sagittale du cerveau (figure 4). Elles constituent un premier système dont les corps cellulaires sont localisés dans le locus coerulus (groupe A6) dont les fibres forment le faisceau noradrénergique dorsal et dont les terminaisons se situent dans le cortex, l'hippocampe et le cervelet. Un autre système dont les corps cellulaires sont localisés dans le bulbe (groupes A5, A7 et A1) comporte les fibres qui empruntent le faisceau noradrénergique ventral et dont les terminaisons sont localisées dans le bulbe, le pont, le mésencéphale, l'hypothalamus et le septum. Les fibres du système sérotoninergique dont les corps cellulaires sont localisés dans les noyaux du raphé (groupes B7, B8 et B9) occupent la partie ventrale du FMT et les terminaisons se situent dans l'hypothalamus, la région optique, le lobe limbique et le cortex. La distribution des fibres sérotoninergiques est ainsi semblable à celle de la voie noradrénergique ventrale.

Le FMT, qui constitue l'essentiel des voies noradrénergiques et sérotoninergiques, se présente comme un faisceau compact et qui ne franchit pas la ligne médiane au niveau de l'hypothalamus latéral (Nauta, 1957).

B. CONTROLE DU FMT

Compte-tenu de ces données, nous avons tout d'abord pratiqué des lésions au niveau du mésencéphale pour détruire les fibres monoaminergiques qui vont se regrouper dans le FMT. Ces larges lésions, unilatérales, ont été réalisées au niveau du noyau interpédonculaire avec les coordonnées stéréotaxiques suivantes : Antériorité (A) - 2,5 mm ; Latéralité (L) - 1,8 mm et Hauteur (H) à partir de la base de la boîte crânienne - 1,7 mm.

Dans un deuxième groupe de rats, le FMT a été détruit

.../...

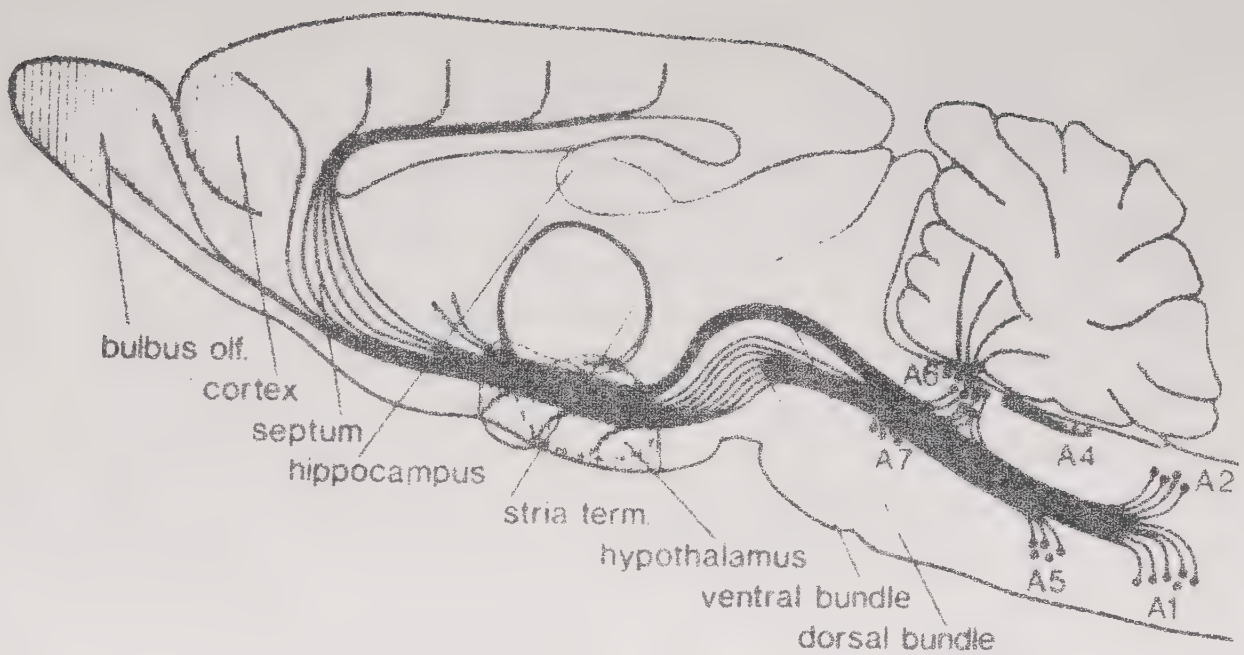


Fig.4 - Principales Voies Monoaminergiques de l'Encéphale

dans l'aire hypothalamique latérale - A - 5,6 mm; L - 1,8 mm; H - 1,7 mm. En outre, de simples descentes d'électrodes sans passage du courant ont été pratiquées chez des rats servant de temoins opérés à blanc ("Sham operated" des anglo-saxons). La localisation de la lésion a été confirmée par l'examen histologique de 4 à 6 cerveaux pour chaque groupe d'animaux après coloration à la thionine (1°/$_{co}$) des coupes frontales de 100 μ d'épaisseur.

Deux à trois semaines après la lésion, les animaux ont été décapités et leur cerveau rapidement prélevé a été coupé en deux moitiés par section sagittale.-côté témoin et côté lésé- opération pratiquée dans une enceinte réfrigérée. La 5-HT, la NA, l'HA et l'HMT ont été dosées soit globalement sur la moitié de cerveau entière, soit régionalement après dissection en 7 parties selon la méthode de Glowinski et Iversen (1966). Le taux des amines et l'activité de l'HMT dans la moitié du cerveau lésé ont été comparés aux valeurs trouvées du côté intact. Les différences entre la moyenne des valeurs ont été analysées par le tems "t" de Student.

C. RESULTATS

1. Lésions mésencéphaliques unilatérales

L'examen histologique indique que les lésions sphériques (d'un diamètre de 2 mm) sont centrées sur le noyau rouge et s'étendent entre la substance noire et la substance grise centrale du mésencéphale. (Figure 5)

A la suite ces lésions, le taux de 5-HT est passé de 809 ng/g (côté témoin) à 521 ng/g (côté lésé), ce qui représente une baisse de 44 % du côté lésé. D'autre part, aucune différence significative n'a été observée dans la concentration de l'HA entre le côté témoin et le côté lésé.

Chez les rats témoins opérés à blanc, les taux de 5-HT et d'HA ne sont pratiquement pas affectés par la simple descente d'électrodes, sans lésion du côté intact (figure 6).

.../...

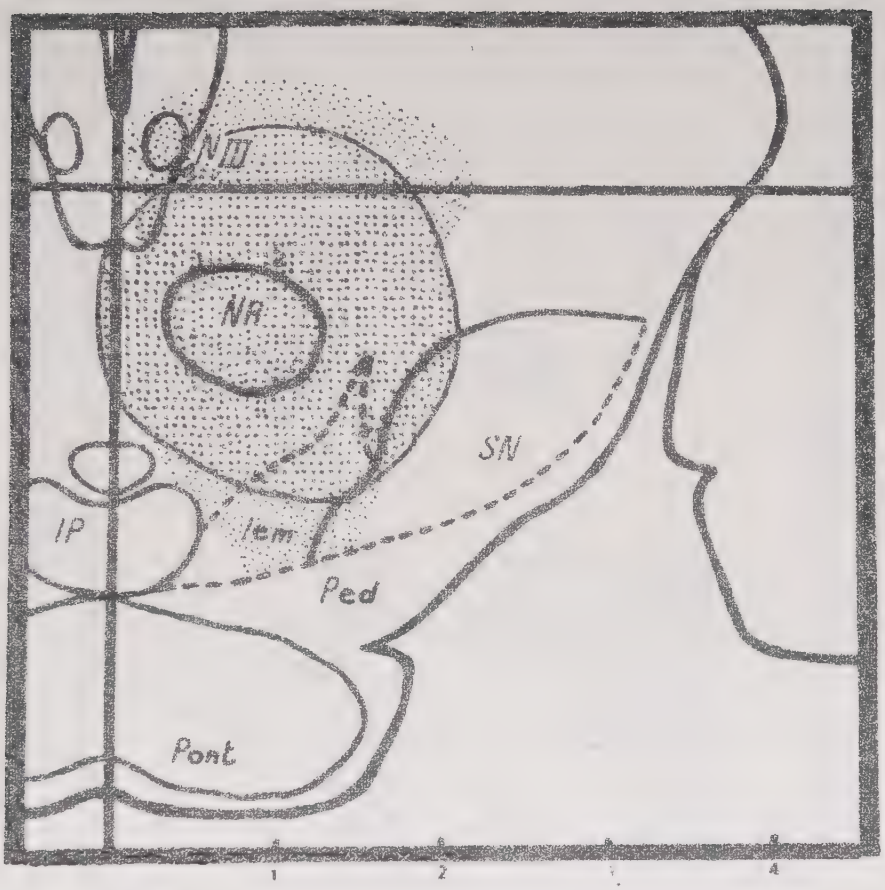


Fig. 5 - Localisation de la Lésion Mesencéphalique Unilatérale

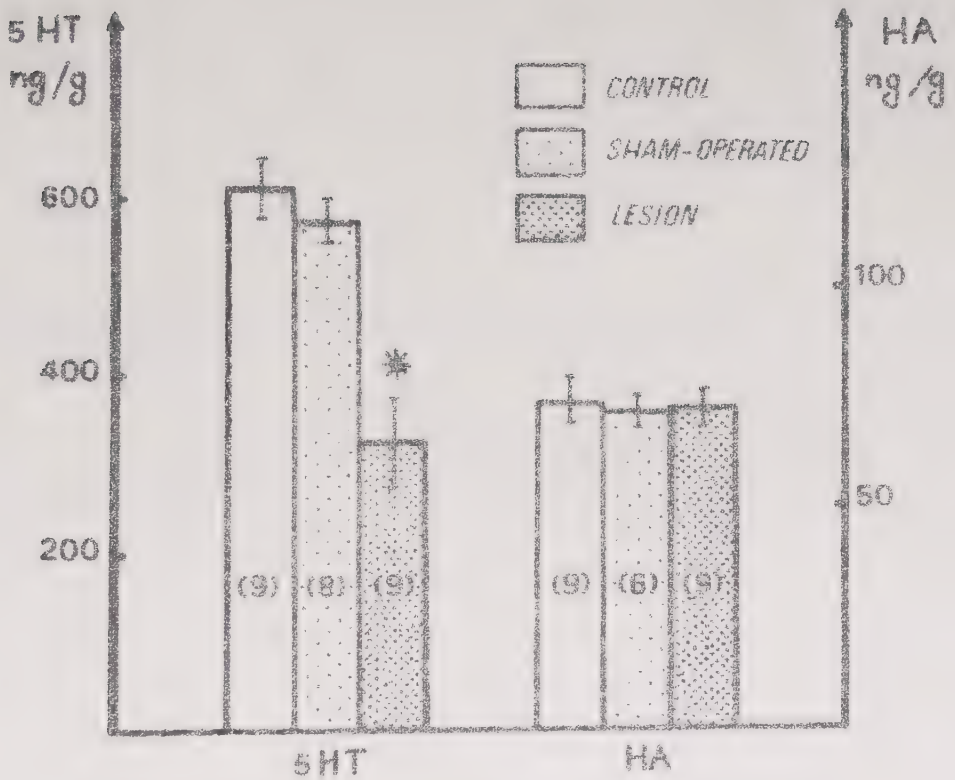


Fig.6-Effets de la Lésion Mesencéphalique sur les Taux de 5-HT et HA du Cerveau

L'effet de ces lésions sur les concentrations régionales de 5-HT, NA et HA est reporté sur le tableau 2. Les taux de 5-HT et de NA sont réduits de façon significative (35-77 %) dans toutes les régions antérieures à la lésion, c'est-à-dire : hypothalamus, mésencéphale, hippocampe, corps striés et cortex, tandis qu'il n'apparait que de très légères altérations dans le cervelet et le bulbe-pont. L'opposition est frappante entre l'effet de ces lésions sur les taux de 5-HT et de NA et la constance des concentrations de l'HA. Aucune région ne présente de modification significative du taux de l'HA ce qui confirme les résultats obtenus sur le cerveau entier. Par exemple, tandis que les taux de la 5-HT et de la NA sont réduits de 70 % environ dans le cortex, la concentration d'HA demeure inchangée.

2. Lésions unilatérales du FMT dans l'aire hypothalamique latérale

L'examen histologique montre que ces lésions représentent une sphère de 1,5 mm de diamètre et que, dans tous les cas, elles interrompent le FMT dans cette zone (figure 7).

Les concentrations régionales de 5-HT et de NA rapportées ici dans la moitié intacte du cerveau sont en accord avec celles qui sont rapportées par les autres auteurs (Curzon et Green, 1970 ; Glowinski et Iversen, 1966). Après lésion, des réductions significatives des taux de 5-HT et de NA sont observés dans les régions suivantes : cortex : - 50 % et - 53 % respectivement ; corps striés : - 72 % et - 49 % respectivement ; hippocampe : - 22 % et - 46 % respectivement (tableau 3). Ces données sont elles aussi en accord avec les résultats rapportés par Andén et coll. (1966) et Heller et Moore (1968). Dans l'hypothalamus, d'un autre côté, le taux de 5-HT est augmenté ce qui peut s'expliquer, selon Andén et coll. (1966) par une accumulation d'amine dans les fibres gonflées, proches de la lésion, accumulation en rapport avec l'existence d'un flux axonal. Dans les régions postérieures

.../...

Régions étudiées	5-HT(%)	NA(%)	DA(%)
Cervelet	- 7	- 5	- 3
Pulbe-Pont	- 26	- 2	- 16
Hypothalamus	- 70	- 60	- 9
Mésencéphale	- 35	- 33	- 14
Hippocampe	- 40	- 21	- 14
Corps striés	- 50	- 41	- 11
Cortex	- 65	- 7	- 4

Tableau I : Effets de lésions unilatérales mésencéphaliques sur les concentrations régionales de 5-HT, de NA et d'DA dans le cerveau de rat.
Chaque valeur indique le pourcentage moyen des modifications du taux de monoamine du côté lésé par rapport au côté témoin -18 animaux groupés par 2 pour le cortex et par 9 pour les autres régions, ont été utilisés pour [illegible].

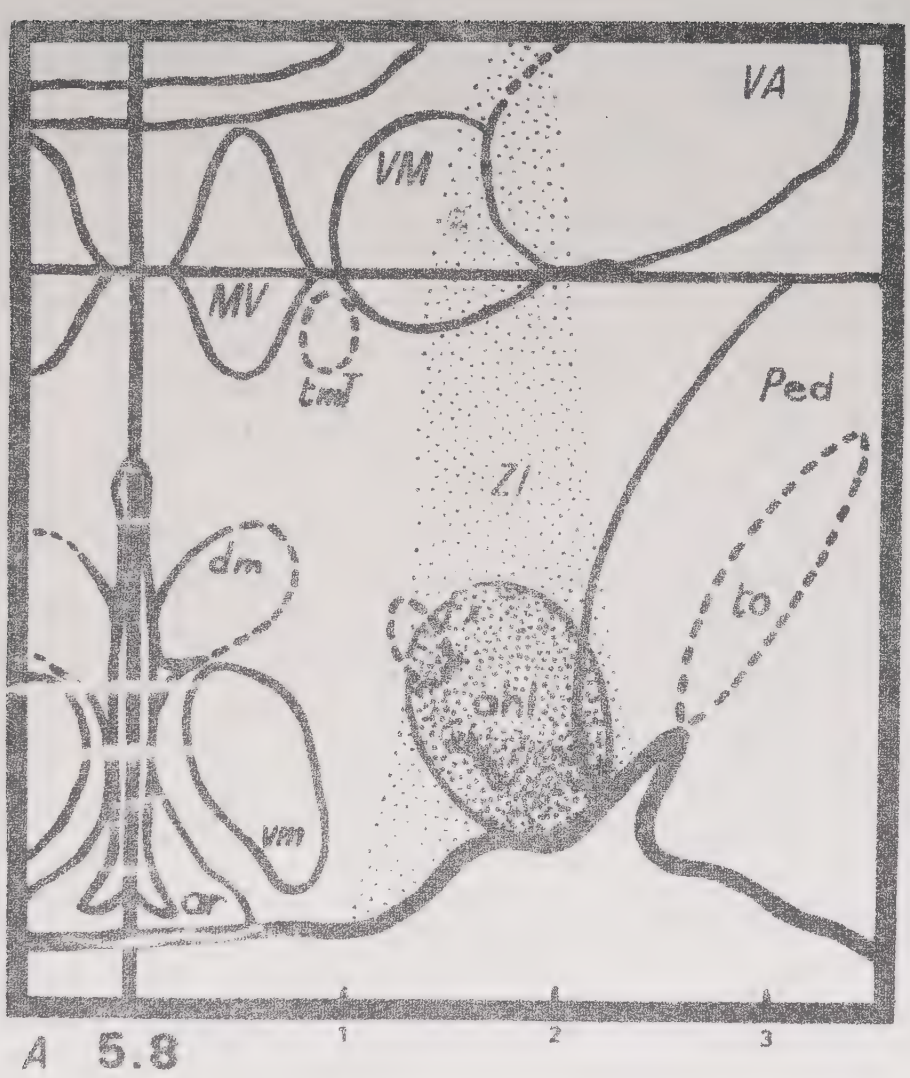


Fig. 7-Localisation de la Lésion du FMT
dans l'Aire Hypothalamique Latérale

Régions étudiées	5-HT		NA	
	Côté témoin (ng/g)	Côté lésé (ng/g)	Côté témoin (ng/g)	Côté lésé (ng/g)
Cervelet	85 ± 14	[illegible] ± 7	174 ± 40	160 ± 16
Bulbe-Pont	638 ± 44	[illegible] ± [illegible]	443 ± 37	45[illegible] ± 56
Hypothalamus	[illegible] ± [illegible]	1150 ± 11[illegible]* (+49 %)	1184 ± 142	1455 ± 97
Mésencéphale	672 ± 62	752 ± 51	351 ± 65	430 ± 19
Hippocampe	[illegible] ± [illegible]	[illegible] ± 20* (−44 %)	325 ± 37	176 ± 35* (−46 %)
Corps striés	[illegible] ± [illegible]	[illegible] ± [illegible]* (−72 %)	[illegible] ± [illegible]	1[illegible]3 ± 34* (−49 %)
Cortex	[illegible]6 ± [illegible]	275 ± 35* (−50 %)	34[illegible] ± 16	162 ± 25* (−53 %)

* P < 0,02 par rapport aux valeurs témoins

<u>Tableau 3</u> : Effet de lésions unilatérales du FMT sur les concentrations régionales de 5-HT et de NA. Les valeurs (exprimées en ng/g) représentent la moyenne ± ES de 5 à 6 déterminations. Les pourcentages entre parenthèses indiquent la moyenne des modifications du taux des amines du côté lésé comparé au côté témoin. Ces valeurs ont été obtenues en faisant la moyenne des pourcentages individuels.

à la lésion, (le cervelet et le bulbe-pont), les taux d'amine sont à peine modifiés par la lésion (tableau 3).

Contrairement aux fortes baisses des taux de 5-HT et de NA observées après ces lésions, ni le taux de l'HA, ni l'activité de l'HMT ne sont modifiés de façon significative dans aucune des régions étudiées (tableau 4). La distribution régionale de l'HA cérébrale qui est présentée dans ce travail est en accord avec celle qui est rapportée par d'autres auteurs (Snyder et Taylor, 1972à).

D. DISCUSSION ET CONCLUSION

Depuis quelques années, la technique de destruction sélective de certains groupes de neurones centraux par lésion électrolytique, suivie de l'analyse biochimique de ses conséquences a constitué une voie d'approche fructueuse pour l'identification des systèmes de neurones aminergiques du SNC.

Dans le présent chapitre, nous avons analysé l'effet de lésions au niveau du mésencéphale et au niveau de l'hypothalamus latéral sur les taux d'HA du cerveau entier ou disséqué en 7 régions et nous avons comparé ces résultats avec les modifications subies par la 5-HT et la NA. Moore et Heller (1967) ont rapporté que la réduction des taux de NA et de 5-HT après lésion du FMT apparaissent entre le deuxième et le troisième jour suivant l'opération, au moment où les premières dégénérescences d'axones sont observés. Après 5 jours, au moment où la dégénérescence des axones est très avancée, 50 à 60 % des deux monoamines ont disparus. Enfin après 12 jours, la réduction est maximale et demeure constante dans les mois qui suivent. C'est pourquoi dans ce travail, les animaux ont été sacrifiés 2 à 3 semaines après la lésion, au moment où les taux de 5-HT et de NA ont atteint leurs valeurs minimales.

.../...

Régions étudiées	HA		HMT	
	Côté témoin (ng/g)	Côté lésé (ng/g)	Côté témoin (nmole/g/h)	Côté lésé (nmole/g/h)
Cervelet	43 ± 10	35 ± 10	3.3 ± 1.1	2.9 ± 0.6
Bulbe-Pont	38 ± 6	34 ± 9	5.7 ± 1.4	5.4 ± 1.3
Hypothalamus	392 ± 21	452 ± 15	10.6 ± 0.7	12.2 ± 2.1
Mésencéphale	89 ± 17	105 ± 28	9.8 ± 1.2	9.6 ± 2.8
Hippocampe	25 ± 8	25 ± 2	11.4 ± 1.9	13.5 ± 1.5
Corps striés	45 ± 3	37 ± 3	12.0 ± 1.2	11.6 ± 0.5
Cortex	46 ± 6	42 ± 5	14.1 ± 2.5	14.1 ± 1.4

Tableau 4 : Effet des lésions unilatérales du FMT sur le taux d'HA et l'activité de l'HMT.
Chaque valeur représente la moyenne ± ES de 6 dosages d'HA et de 4 dosages de l'activité de HMT.

A la suite des lésions unilatérales mésencéphaliques, aucune altération du taux d'HA n'a été observée dans le demi cerveau lésé, tandis que le taux de 5-HT était abaissé de 44 %. Cette dernière valeur est comparable aux résultats obtenus par Heller et Moore (1965) après des lésions du tegmentum dorsomédian.

Toutefois, une lésion peut produire un effet neurochimique dans une zone restreinte, résultat qui pourrait ne pas être révélé par un dosage dans le cerveau entier. Des déterminations régionales ont donc été entreprises dans le groupe suivant. Après des lésions mésencéphaliques, alors que le taux d' l'HA n'était modifié dans aucune des régions analysées -confirmant ainsi les résultats obtenus dans le cerveau entier- de fortes baisses des taux de 5-HT et de NA (35 - 77%) étaient observées dans toutes les régions situées en avant de la lésion; l'abaissement de 5-HT et de NA a également été rapporté par Ungerstedt (1971) après lésions des faisceaux noradrénergiques dorsal et ventral.

Après les résultats obtenus par lésions mésencéphaliques, nous avons pensé qu'il pouvait exister des neurones histaminergiques d'origine rostrale. De plus, le FMT se présente comme un faisceau relativement compact et non croisé au niveau de l'hypothalamus latéral : Guillery (1957) l'a décrit comme un faisceau constitué par un mélange de fibres ascendantes et descendantes qui sont présentes dans la presque totalité de son parcours. Pour examiner la possibilité d'existence de neurones histaminergiques au niveau hypothalamique latéral, des lésions électrolytiques unilatérales ont été placées dans cette région. Ces lésions, contrôlées par examens histologique et biochimique (baisse des taux de 5-HT et NA de 20 à 70 % dans l'hippocampe, les corps striés et le cortex) n'ont pas modifié de façon significative le taux de l'HA dans les différentes structures du cerveau.

.../...

Les activités des enzymes du catabolisme des CA comme la catéchol-o-méthyltransférase et monoamineoxydase ainsi que les taux de DA ont été étudiés après différentes lésions du SNC et après injection intraventriculaire de 6-OH DA. Dans ces expériences, tandis que les taux de DA étaient notablement abaissés, les activités des enzymes du catabolisme n'étaient pas modifiés (Goldstein et coll., 1969 ; Marsden et coll., 1972 ; Uretsky et Iversen, 1970). En ce qui concerne le métabolisme de l'HA, la présence de l'enzyme du catabolisme, l'HMT, a été rapportée dans toutes les régions du cerveau qui contiennent l'amine. La plus grande partie de l'activité enzymatique a été trouvée dans la fraction particulaire et confinée aux synaptosomes comme l'HA elle-même (Kuhar et coll., 1971). L'activité de l'HMT a été mesurée après ces lésions hypothalamiques. Pas plus que pour l'HA nous n'avons observé d'altération de l'activité enzymatique dans les différentes régions envisagées.

Pour ce qui est des enzymes responsables de la biosythèse des monoamines, Moore et coll. (1966) ainsi que Heller et coll. (1965) ont trouvé que la réduction de NA et de 5-HT s'accompagnait d'abaissements de 36 % et de 44 % des activités de la DOPA décarboxylase et de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase respectivement, dans le télencéphale, après lésions de l'hypothalamus latéral chez le rat. Au contraire, il apparait d'après nos travaux que l'intégrité du FMT n'est pas essentielle pour maintenir une concentration normale d'HA. Ces résultats sont en accord avec le fait que la 6-OH DA, qui détruit sélectivement les terminaisons nerveuses catécholaminergiques et réduit les taux de NA et de DA cérébrales (Breese et Dennis Traylor, 1970 ; Uretsky et Iversen, 1970) ne modifie ni le taux d'HA ni non plus l'activité de l'HD dans le cerveau de rat (Snyder et Taylor, communication personnelle citée par Garbarg et coll. 1973). Ces données apportent une preuve supplémentaire de la spécificité de l'HD et de sa non-identification avec la DOPA décarboxylase.

.../...

Elle s'ajoute aux arguments suivants :
1. Les caractéristiques de l'HD spécifique - pH optimum et valeur du Km - sont différentes de celles de la décarboxylase des acides L-aminés aromatiques (Schwartz et coll., 1970).

2. L'alpha-méthyl DOPA et le benzène à faible concentration n'altèrent pas sensiblement l'activité de l'HD cérébrale (Schwartz et coll., 1970 ; Taylor et Snyder, 1971b), tandis que le premier agent est connu pour inhiber et le deuxième pour augmenter de 4 à 10 fois l'activité de la décarboxylase non spécifique des acides L-aminés aromatiques (Mackay et Sheperd, 1960 ; Schayer, 1966b). Par contre, l'alphahydrazinoanalogue de l'His, comme la brocrésine, tous deux inhibiteurs connus de l'HD spécifique bloquent presque complétement (à la concentration de 10^{-4}M) la formation de l'HA en opérant sur des extraits de cerveau. Enfin l'HD et la DOPA décarboxylase n'ont pas les mêmes activités relatives dans l'homogénat total de différentes régions du cerveau, et le pourcentage d'HD particulaire diffère aussi de celui de la DOPA décarboxylase (Schwartz et coll., 1970 ; Taylor et Snyder, 1972).

D'autres propriétés sont aussi connues et utilisables pour différencier des amines biogènes. Par exemple, chez le rat, la réserpine induit une déplétion de longue durée de la 5 -HT et de la NA -par bloquage présumé du processus de captation des monoamines dans les granules- mais n'altère pas notablement le taux de l'HA cérébrale, ce qui indique que les réserves d'HA dans le cerveau diffèrent de celles des autres amines. D'autre part, Kataoka et de Robertis (1967) ainsi que Carlini et Green (1963) ont comparé la localisation subcellulaire de l'HA avec celle des autres médiateurs (5-HT et NA). Ils ont trouvé que les particules contenant l'HA sédimentent plus lentement que celles des autres amines. Dans les fractions microsomiales enrichies en HA du cortex cérébral de rat, les premiers auteurs ont observé beaucoup de petites terminaisons nerveuses, suggérant ainsi que les réserves d'HA étaient différentes de celles de la 5-HT ou de la NA

.../...

Enfin des études ontogénétiques ont montré que les taux d'HA cérébrale sont 5 fois plus élevés chez le nouveau-né que chez l'adulte, diminuant progressivement au cours de la neuromaturation (Pearce et Shanberg, 1969 ; Rönnberg et Schwartz 1969), tandis que les taux de 5-HT et de NA augmentent constamment au cours du développement (Kanki et coll., 1962 ; Bennett et Giarman, 1965).

Conclusion :

Au cours de cette expérimentation, nous avons trouvé des taux et une répartition régionale d'HA cérébrale qui présentent beaucoup de similitudes avec ceux des amines biogènes (NA, 5-HT, etc.) pour lesquelles a pu être établie une cartographie de voies empruntées par les neurones aurénergiques ou sérotoninergiques. Au niveau du mésencéphale et de l'hypothalamus, ces voies suivent le trajet du FMT.

En interrompant ce faisceau, nous avons mis en évidence une dissociation dans l'évolution des taux d'amines -baisse de la NA et de la 5-HT, stabilité du taux d'HA. Cette discordance correspond au fait que s'il existe des fibres histaminergiques ce qui permet d'expliquer la présence d'HA dans la partie correspondant aux synaptosomes d'un fractionnement subcellulaire, ces fibres pourraient suivre d'autres trajets que celui du FMT, on encore, l'élément pris en considération comme reflet de l'intégrité des voies histaminergiques pourrait être un témoin très peu sensible.

C H A P I T R E II

LESIONS BILATERALES CENTREES SUR LE FORNIX

Dans le cerveau, la concentration d'HA la plus élevée se trouve dans l'hypothalamus (Rönnberg et Schwartz, 1969), particulièrement dans des corps mamillaires (Taylor et coll., 1972), leur principale afférente est représentée par le fornix dans lequel se regroupe la plupart de ses fibres de la fimbria hippocampique ipsilatérale. Environ la moitié des fibres du fornix se termine dans les noyaux mammillaires en position dorsolatérale (Nauta, 1956). A la suite de ces observations, pour tester l'existence éventuelle de fibres histaminergiques dans le fornix, des lésions électrolytiques bilatérales centrées sur ce faisceau ont été faites et les conséquences sur la concentration de l'HA et l'activité de l'HD et l'HMT dans le cerveau, examinées.

A. RAPPEL ANATOMIQUE

Le fornix est un important faisceau qui représente la principale projection corticale vers l'hypothalamus, cette voie est constituée par rassemblement de fibres provenant de l'hippocampe (principalement des cellules pyramidales) par l'intermédiaire de la fimbria de l'hippocampe, puis au cours de son trajet en direction rostrale [illegible] de neurones provenant du septum et du gyrus cingulaire. Le fornix est alors situé sous le corps calleux, de part et d'autre du plan sagittal médian. Pour une partie sa trajectoire s'incurve alors selon une direction ventrale [illegible] en formant un arc en direction de la partie antérieure du diencéphale. La partie du fornix située à ce niveau est désignée sous le nom de la crête du fornix. A ce niveau, ce faisceau se divise en trois fractions, l'une impaire, la branche précommissurale et deux autres, les colonnes du fornix qui sont symétriques par rapport au plan sagittal et passent en arrière de la commissure antérieure tout en accentuant leur trajet en direction ventrocaudale.

La partie précommissurale du fornix se dirige vers les noyaux du septum [illegible] fibres qui entrent en relation directe avec l'hypothalamus [illegible]

la région de la bandelette diagonale de Broca puis une direction caudale dans le FMT. Les colonnes du fornix traversent tout l'hypothalamus pour aboutir en grande partie dans les corps mammillaires (Zeman et Maitland Innes, 1963), tandis qu'une fraction réduite, mais non négligeable, correspondant au tractus cortico-hypothalamique s'en sépare à divers niveaux de l'hypothalamus (Powell et coll., 1957). Une autre partie se dirige vers la partie antérieure du thalamus pour s'incorporer à la strie médullaire qui rejoint les noyaux de l'habénula, point de départ de la voie habénulo interpédonculaire, établissant ensuite une relation avec les corps mammillaires. Il y a aussi des projections vers le gyrus cingulaire. En plus, quelques fibres des colonnes du fornix doublent les corps mammillaires pour s'achever d'une manière diffuse dans la partie antérieure du tegmentum mésencéphalique (Nauta, 1958).

B. LESIONS DU FORNIX

Des lésions bilatérales diencéphaliques centrées sur la colonne fornicale ont été entreprises chez le rat. Les coordonnées stéréotaxiques utilisées pour la localisation de la lésion étaient : A - 7,3 mm ; L - 1,0 mm ; H - 1) 3,8 mm et 2) 2,5 mm. Pour faire ces lésions, l'électrode était descendue à 2,5 mm puis remontée à H = 3,8 mm ; un courant anodal était alors passé à raison de 5 sec à 3 mA puis 15 sec à 2 mA respectivement. Dans cette série d'expérience, le positionnement de l'électrode en 2 étapes, de même que les fortes intensités de courant étaient nécessaires pour arriver à détruire ce faisceau beaucoup plus résistant qu'une zone cellulaire ou un ensemble plus diffus de fibres. Deux à trois animaux par groupe ont été utilisés pour la confirmation histologique des lésions. Les sections de 100 µm (sagittales ou transversales) ont été colorées avec de la thionine 1%.

.../...

A différents intervalles de temps -4 h, 5, 30, 60 et 120 jours- les animaux ont été sacrifiés en même temps qu'un groupe de rats témoins. Les taux de l'HA et les activités de l'HD et l'HMT ont été estimés dans 7 régions différentes du cerveau. Dans certains groupes d'animaux, les dosages ont été faits sur 3 divisions de l'hypothalamus -antérieure, médiane et postérieure-, la reproductibilité de la dissection était contrôlée par un dosage de protéines. Dans d'autres groupes d'animaux, le taux de l'HA et l'activité de la LDH ont été mesurées dans 3 fractions subcellulaires de l'hypothalamus. Les différences entre la moyenne des valeurs des animaux témoins et lésés ont été analysées par le test "t" de Student.

C. RÉSULTATS

A l'examen histologique, la lésion volumineuse (1mm/2mm environ), siège entre la commissure blanche antérieure etles noyaux thalamiques antérieurs interrompant au moins en grande partie le fornix dans tous les cas (figure 8). Dans les zones périlésionelles, on observe de nombreux macrophages bourrés de pigment ferrique. Autour de la lésion, on observe aussi une prolifération neuroglique. Cette prolifération ne s'observe guère que sur une distance de 0,5 à 0,8 mm à partir de la lésion. On n'a pas retrouvé de mastocytes tant autour de la lésion qu'à distance.

Soixante jours après les lésions, une étude de la répartition régionale de l'HA cérébrale (tableau 5) montre que, contrairement à notre attente, le taux de l'amine est élevé de façon significative dans l'hypothalamus : elle passe de 366 ± 22 ng/g chez les animaux témoins à 742 ± 112 ng/g chez les animaux lésés. Par ailleurs, dans toutes les autres régions analysées, le taux de l'HA demeure inchangé. L'élévation non significative du taux de l'HA dans le mésencéphale ne peut être prise en considération étant donné que cette région contient la lésion elle-même et que des changements non spécifiques peuvent être intervenus.

.../...

Fig. 8 - Localisation de la Lésion du Fornix

Régions étudiées	HA (ng/g)	
	Témoins	Lésés
Cervelet	25 ± 2	22 ± 3
Bulbe-Pont	29 ± 3	32 ± 5
Hypothalamus	366 ± 22	722 ± 112*
Mésencéphale	94 ± 17	132 ± 20
Hippocampe	26 ± 3	34 ± 5
Corps striés	37 ± 3	46 ± 8
Cortex	34 ± 3	31 ± 2

*p $<$ 0,01 par rapport aux valeurs témoins

Tableau 5 : Effet de lésions bilatérales diencéphaliques (60 jours) sur la distribution régionale de l'HA cérébrale.
Les valeurs (exprimées en ng/g) représentent les moyennes ± Sm de 11 déterminations.

L'étude détaillée de l'élévation du taux de l'HA dans l'hypothalamus est alors entreprise pour élucider son mécanisme. Tout d'abord, une étude cinétique est faite (figure 9) sur l'hypothalamus en entier : 4 h après la lésion, aucune altération du taux de l'HA n'est observé, c'est pourquoi ce temps n'est pas porté sur la courbe de cinétique. Cinq jours après la lésion, on observe une légère élévation du taux de l'amine, mais non significative. Ensuite l'augmentation progressive du taux de l'HA atteint 80 - 100 % 60 jours après la lésion pour rester en plateau jusqu'à 120 jours au moins.

Après l'aspect cinétique, les modifications du taux de l'HA sont étudiées dans les 3 régions de l'hypothalamus, 60 jours après la lésion (c'est-à-dire lorsque l'élévation est maximum) (tableau 6) pour voir si ce phénomène est limité à une certaine partie de cette structure. L'élévation du taux de l'HA est uniforme dans les trois parties (110-130 % - $p < 0,01$). Elle s'accompagne d'une augmentation de l'activité de l'HD (environ 40 % - $p < 0,05$) dans les parties moyennes et postérieure. de l'hypothalamus. On ne peut tenir compte des taux d'amine de la partie antérieure de l'hypothalamus en raison de changements non spécifiques qui pouvaient apparaître au voisinage de la lésion. L'activité de l'HMT n'est modifiée dans aucune des régions analysées.

Pour déterminer si cette lésion avait altéré aussi d'autres amines, la NA et la 5-HT ont été dosées dans les 3 divisions de l'hypothalamus. Elles ne sont altérées dans aucune de ces regions (tableau 7), ce qui est en accord avec les travaux de Parent et coll. (1969) chez le chat.

Enfin, on a déterminé la localisation subcellulaire de l'HA hypothalamique après lésion, en la comparant à celle de rats témoins. Le fractionnement des homogenats a été pratiqué par centrifugation différentielle selon Whittaker et coll., 1964, le taux de protéines et l'activité de la LDH servant de marqueurs biochimiques. La repartition des activités

.../...

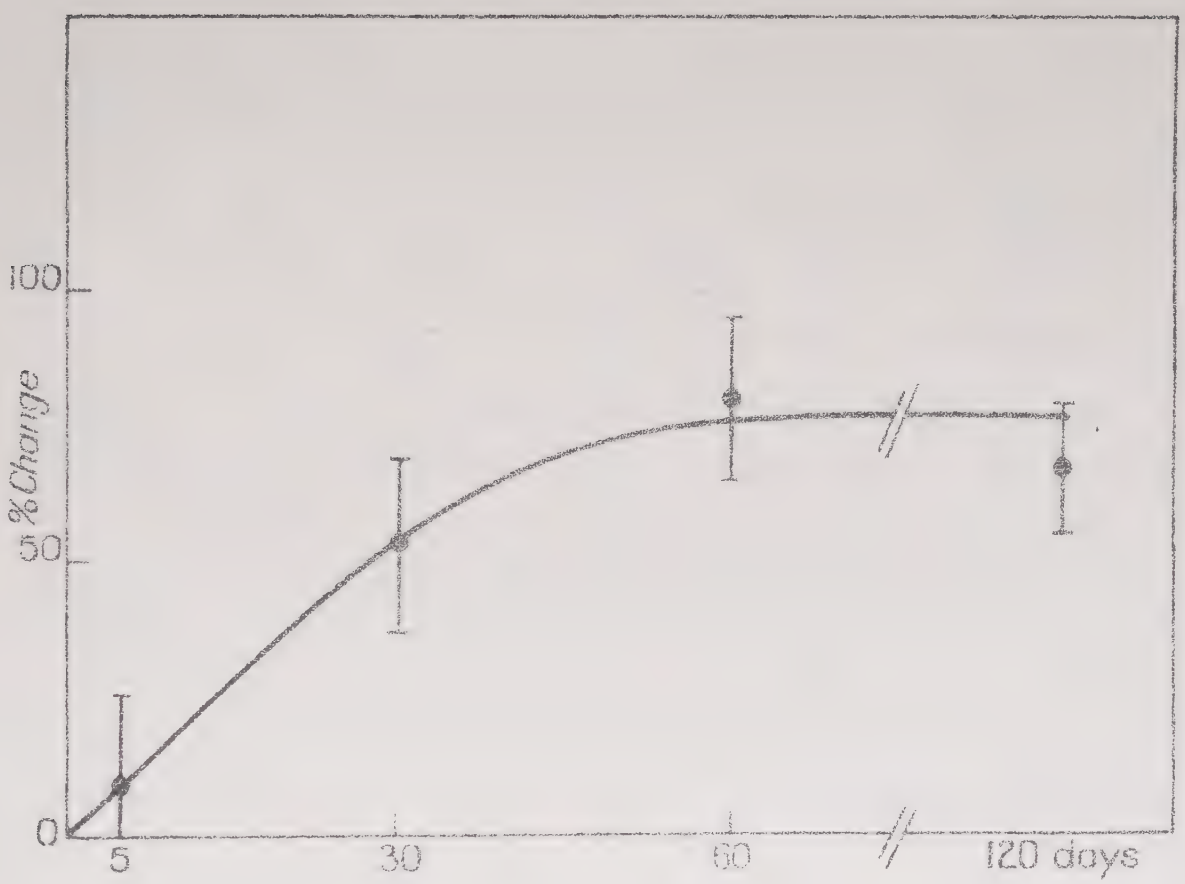


Fig. 9 - Variations du Taux d'HA Hypothalamique apres Lésion du Fornix

	HA		HM		HP	
	Témoin	Lésé	Témoin	Lésé	Témoin	Lésé
HA (ng/g)	230±22	481±39** (+109 %)	293±30	636±84** (+117 %)	519±70	1223±269** (+136 %)
HD nmole/g/h	4,6±0,4	3,7±0,6 (- 19 %)	5,7±0,8	8,4+1,1* (+ 47 %)	8,8+0,6	12,5±2,1* (+ 42 %)
HMT nmole/g/h	42,0±5,0	35,5±7,5 (- 8 %)	40,5±2,0	36,7±2,1 (- 9 %)	59,0±10,0	35,7±5 (- 39 %)

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ par rapport aux valeurs témoins

HA - Hypothalamus antérieur; HM - Hypothalamus médian;

HP - Hypothalamus postérieur;

Tableau 6 : Effet de lésions diencéphaliques bilatérales sur le taux d'HA et les activités HD et HMT dans l'hypothalamus-antérieur, médian et postérieur.
Les valeurs représentent les moyennes ± Sm de 7 déterminations.

	HA		HM		HP	
	Témoin	Lésé	Témoin	Lésé	Témoin	Lésé
NA (ng/g)	3769±561	3795±394	2128±249	2613±285	2028±302	2587±662
5 - HT (ng/g)	1100±126	1281±201	945±151	979±67	1611±192	1625±125
HA (ng/g)	230±22	481±39* (+109 %)	293±30	636±84* (+117 %)	519±70	1223±269* (+136 %)

*p ∠0,01 par rapport aux valeurs témoins

HA - Hypothalamus antérieur ; HM - Hypothalamus médian ;
HP - Hypothalamus postérieur

Tableau 7 : Effet de lésions diencephaliques bilatérales (60 jours) sur les taux d'HA, NA et 5-HT dans l'hypothalamus -antérieur, médian, et postérieur.
Les valeurs représentent les moyennes ± Sm de 7 déterminations.

enzymatiques, entre P_2 (fraction mitochondriale brute renfermant les synaptosomes) et S (cytoplasme), conforme aux travaux des autres auteurs (figure 10), en ce qui concerne les animaux témoins, a été trouvée modifiée chez les rats lésés. En particulier, une baisse significative ($p<0,05$) de l'activité de la LDH est observée dans la fraction P_2 à la suite de la lésion. D'un autre côté, la concentration subcellulaire de l'HA (figure 10) montre une augmentation significative ($p<0,05$) dans les 3 fractions, et le profil de la distribution subcellulaire de l'HA chez les animaux lésés apparaît grossièrement semblable à celui des animaux témoins.

D. DISCUSSION ET CONCLUSION

Après lésion bilatérale du fornix, le taux de l'HA augmente progressivement à partir de 5 jours et atteint une augmentation significative après 60 jours. Après ce délai, le taux de l'HA s'est maintenu élevé jusqu'à 120 jours. Cette élévation de l'amine se retrouve dans les 3 divisions de l'hypothalamus avec une élévation concommittante de l'activité de l'HD, significative dans les parties médiane et postérieure. Cette augmentation se répartit également dans les 3 fractions subcellulaires, P_1, P_2 et S de l'hypothalamus.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce phénomène : une des possibilités serait une diminution de la libération d'HA à partir des terminaisons nerveuses, à la suite de l'interruption de l'influx nerveux consécutif à la lésion du fornix. En effet, Ungerstedt et coll. (1969) et Ungerstedt et Arbuthnott (1970) ont observé que, quelques mn après l'injection de 6-OH DA dans les cellules du groupe dopaminergique de la substance noire, les rats commencent à tourner vers le côté affecté par la 6-OH DA et ils attribuent cette réaction à l'impossibilité pour les neurones de propager l'influx nerveux tout de suite après l'administration de la drogue, ce qui réduit la libération de DA et par suite, son activité. Les taux de DA sont augmentés dans les corps striés pendant les premières 24 h après une

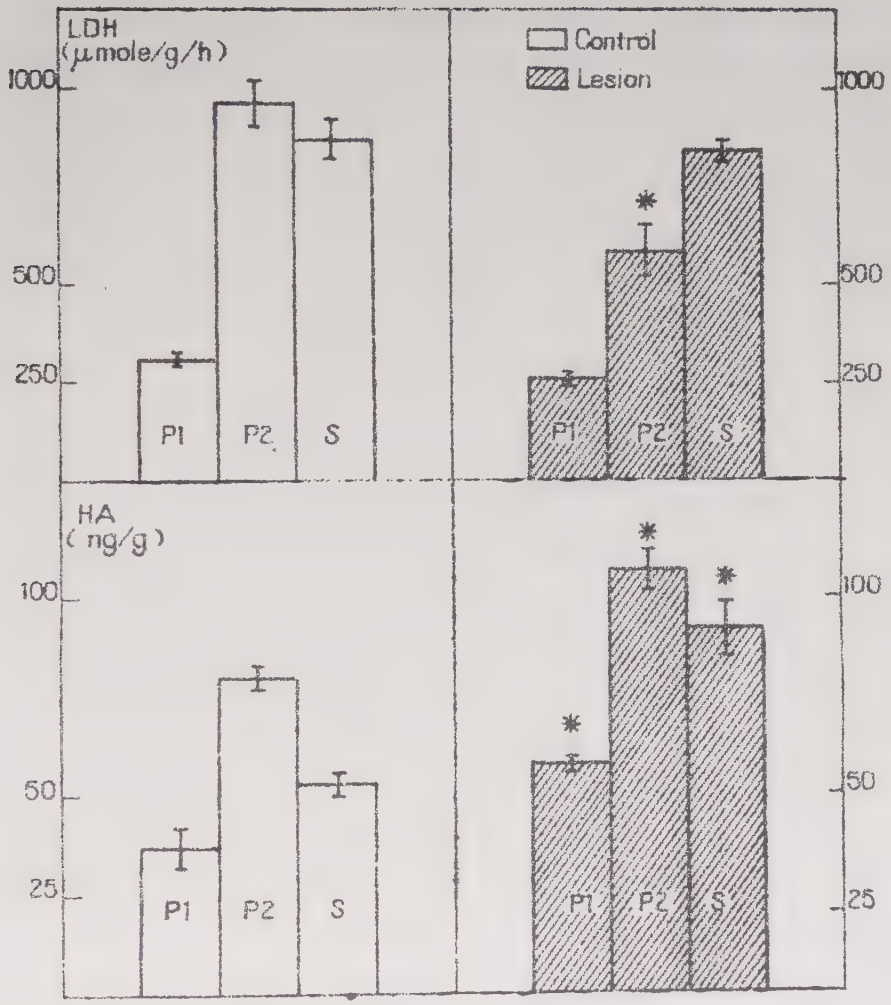
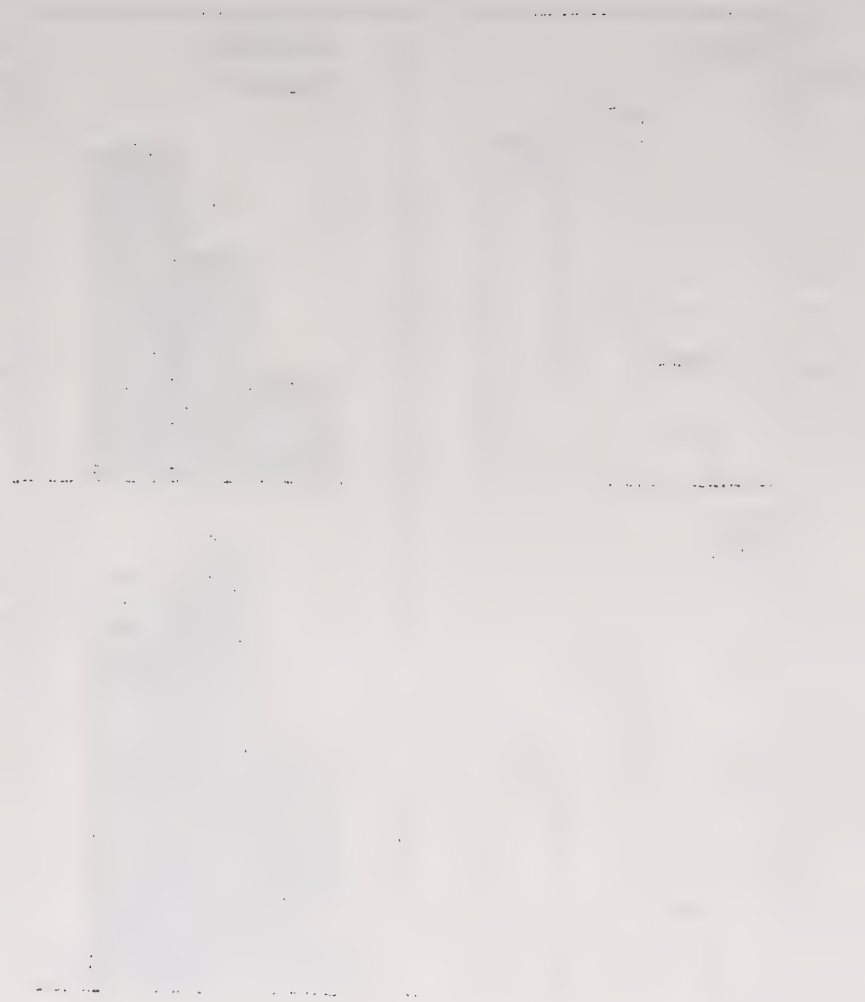


Fig.10- Effets de la Lésion du Fornix sur les Répartitions Subcellulaires de l'Activité LDH et d'HA dans l'Hypothalamus



lésion de la substance noire (Faull et Laverty, 1969 ; Andén et coll., 1971 ; Nybäck, 1972). Nybäck (1972) rapporte une élévation d'environ 50 % 6 à 18 h après la lésion et une réduction importante du taux de DA après 48 h. L'élévation du médiateur dans les terminaisons est alors attribuable à un arrêt de sa libération, dû à une interruption de l'arrivée du potentiel d'action dans les ramifications terminales du neurone séparé de son corps cellulaire, avant que n'intervienne la dégénérescence. Dans le cas présent, l'installation différée de l'élévation de l'HA mise en évidence par l'absence de variation 4 h après la lésion, semble en défaveur de cette hypothèse.

L'interruption à la suite de la lésion du transport axoplasmique des granules de stockage de l'amine pourrait provoquer une accumulation de l'HA dans les collatérales des axones sectionnés par la lésion. Dans ce cas, les collatérales sont supposées intacte et la production de l'HA dans le péricaryon ainsi que son transport le long de l'axone seraient inchangés. Ainsi dans les collatérales des axones sectionnées, on attendrait une augmentation de concentration de l'amine due à un transport continu d'amine dans un volume réduit des terminaisons. Dahlström et Fuxe (1965) ont démontré que les monoamines s'accumulent intra-axonalement en quelques heures après section ou traumatisme d'un axone monoaminergique. Dans la moelle épinière, cette accumulation de monoamine proximale de la transection atteint un maximum après 24 h et demeure inchangée jusqu'à 14 jours environ. Puis elle décroit progressivement. Andén et coll. (1965b) rapportent qu'une forte accumulation de DA apparait dans les axones lésés qui vont vers le néostriatum et qu'elle disparait après 3 à 4 semaines. Dans des circonstances où le phénomène d'accumulation d'amine dans les collatérales a été bien établi, l'accumulation atteint un maximum en quelques jours après la lésion et subsiste plusieurs semaines (Ungerstedt, communication personnelle citée par Moore et coll., 1971). La dynamique de l'interruption du transport axoplasmique qui donne lieu à une accumulation d'amine et celle de l'accumulation dans les collatérales à la suite de lésions

.../...

différent nettement de celle de l'augmentation de l'HA hypothalamique. De plus, ce phénomène a été aussi observé dans la partie postérieure de l'hypothalamus qui contient les corps mammillaires où se terminent les fibres du fornix. Ainsi ces deux explications ne semblent pas pouvoir rendre compte du phénomène observé.

Cette élévation du taux de l'HA pourrait être attribuée à l'apparition de nouveaux types de cellules de stockage de l'HA, telles que les mastocytes dans le site dénervé. Après étude de la distribution subcellulaire de l'HA cérébrale, différents auteurs (Carlini et Green, 1963 ; Michaelson et Coffman, 1967. ; Kataoka et de Robertis, 1967 ; Kuhar et coll., 1971b) ont conclu à la présence de l'amine dans les fractions synaptosomales alors que les granules de mastocytes sédimentent avec la fraction nucléaire (Hagen et coll., 1959 ; Green et Fureno, 1962 ; Baudry et coll., communication personnelle). Dans le présent travail, l'examen histologique n'a permis de détecter aucun mastocyte au voisinage ou à distance du site lésé. De plus, si l'élévation du taux de l'HA était due à l'apparition de mastocytes, elle aurait été limitée à la fraction subcellulaire P_1 (fraction nucléaire) avec laquelle les mastocytes sédimentent. Mais la distribution subcellulaire de l'HA montre que l'augmentation est significative dans les 3 fractions. Les cellules gliales qui encadrent le site lésé semblent dépourvues d'HA (résultat non publié). Enfin, tandis que la réaction inflammatoire et les changements non spécifiques qui accompagnent la lésion sont limités à son voisinage, ainsi que le montre l'examen histologique, l'augmentation du taux de l'HA se trouve dans des régions éloignées de la lésion et de plus, persiste après 120 jours.

Finalement on doit évoquer une dernière hypothèse pour expliquer cette augmentation de l'HA ainsi que l'accroissement corollaire de l'HD. Elle présente l'avantage de rendre compte de la cinétique du phénomène, ainsi que de la distribution subcellulaire de l'HA. Cette hypothèse fait appel à la

.../...

notion de réinnervation hétérotypique. Ce processus récemment mis en évidence par Raisman (1969) peut être schématisé de la façon suivante : dans les régions partiellement dénervées bourgeonneraient des collatérales issues de neurones histaminergiques intacts. Dans le système nerveux adrénergique périphérique, de telles arborisations de collatérales ont déjà été rapportées pour expliquer la réinnervation de zones dénervées (Olson et Malmfors, 1970) et des phénomènes comparables ont été récemment observés aussi dans le SNC (Raisman, 1969 ; Björklund et Stenevi, 1971 ; Moore et coll., 1971 ; Bernstein et Bernstein, 1971). Raisman (1969) a étudié le phénomène d'arborisation collatérales impliquant deux faisceaux centraux - fimbria et FMT- centrés sur le noyau septal médian. Il a rapporté des résultats suggérant que les axones adrénergiques du FMT pouvaient réinnerver le noyau septal médian après interruption de son innervation provenant de la fimbia. Cette hypothèse est basée sur des observations de microscopie électronique qui démontrent que le nombre de terminaisons nerveuses faisant des contacts synaptiques est supérieur dans le noyau septal dénervé. Cet accroissement indiquerait que les sites synaptiques devenus vacants sont occupés alors par une arborisation des collatérales du FMT. Ainsi, il suggère que les sites désafférentiés puissent servir de stimulus puissant de la réinnervation hétérotypique par des fibres locales normales.

Dans ce contexte, il faut rappeler que la distribution sous-cellulaire de la LDH indique une réduction significative de son activité enzymatique dans la fraction P_2 des animaux lésés, ce qui suggère une réduction de la densité des terminaisons nerveuses par suite de la lésion. Au contraire, l'élévation du taux de l'HA est significative dans cette fraction P_2 ce qui est en faveur de l'hypothèse d'une arborisation de neurones histaminergiques dans la zone désafférentiée. Ces résultats sont en accord avec le récent travail de Powell et coll. (1972) sur les changements de fluorescence des corps mamillaires après lésions du fornix chez le rat. Ils observent un changement dans la distribution de la couleur de la fluorescence après lésion. Tandis que la fluorescence jaune prédomine

.../...

dans les corps mamillaires des rats témoins, une fluorescence vert-jaune est observée après lésion du fornix. Ces modifications suggèrent l'existence d'un phénomène d'arborisation nerveuse dans la région des corps mamillaires.

Moore et coll. (1971) ont montré qu'une transection unilatérale totale de la fimbria hippocampique induit une augmentation nette de l'innervation adrénergique des noyaux septaux qui reçoivent les projections importantes de l'hippocampe. Elle apparaît entre 8 et 15 jours après l'opération, atteint le maximum entre 30 et 60 jours, et persiste au moins 150 jours après la dénervation septale. Cette cinétique est tout à fait comparable à celle de l'élévation du taux de l'HA hypothalamique après section du fornix. L'élévation simultanée de l'activité de l'HL apporte un argument supplémentaire en faveur de cette hypothèse.

En conclusion :

la cinétique et la distribution subcellulaire du phénomène de l'augmentation du taux de l'HA hypothalamique, ainsi que l'élévation concomitante de l'HL, après lésion bilatérale dien-
existence d'une arborisation de collatérales à partir de neurones histaminergiques intacts au voisinage ou dans le site dénervé. Il est évident que la confirmation ultime de l'existence d'un tel phénomène de réinnervation ne pourra être apportée que par une visualisation histochimique sensible et spécifique.
rente ou efférents à l'hypothalamus et plus particulièrement aux corps mamillaires.

Les expériences précédentes suggéraient l'existence possible de terminaisons histaminergiques dans les trois parties de l'hypothalamus. Pour essayer de confirmer cette hypothèse, de larges sections ont été tentées soit en arrière, soit en avant de cette structure. Les premières se sont avérées difficilement compatibles avec une survie prolongée des rats. Nous avons donc étudié les effets de sections antérieures, pratiquées dans le diencéphale. Par ailleurs, les effets d'un isolement du bulbe olfactif ont été recherchés dans un but analogue.

A. ISOLEMENT DU BULBE OLFACTIF

Les lésions pratiquées au niveau septal ont non seulement atteint le fornix mais se sont étendues de manière plus ou moins régulière vers le noyau du septum dont on connait les relations avec le lobe olfactif. Afin de ne pas négliger une origine rostrale de fibres histaminergiques, nous avons pratiqué une section des lobes olfactifs sur un groupe d'animaux.

La section des lobes olfactifs a été faite au moyen d'une spatule suffisamment effilée, et ayant 3 mm de large. Après avoir fixé le rat, légèrement anesthésié à l'éther sur l'appareil stéréotaxique, la spatule est descendue selon des repères bien précis (A - 15 mm), jusqu'au plancher de la boîte crânienne juste à la jonction des lobes olfactifs et du cerveau. Puis la spatule est déplacée selon un plan latéral pour effectuer la section. 12 jours après la section bilatérale des bulbes olfactifs, les animaux sont sacrifiés et l'activité de l'HD mesurée dans l'hippocampe et l'hypothalamus. Il n'a pas été trouvé de modification de l'activité HD dans ces deux régions. (tableau 8)

.../...

Régions étudiées	[illegible] ([illegible]/mg [illegible])	
	Témoins	[illegible]
Hippocampe	[illegible]	[illegible]
Hypothalamus	[illegible] ± 10[illegible]	[illegible]

[illegible]

L'ablation des lobes olfactifs modifie beaucoup le taux de NA de plusieurs régions du cerveau (Pohorecky et coll., 1969). De plus Pohorecky et Chalmers en 1971, ont montré une diminution de l'activité de la tyrosine hydroxylase du côté lésé du télencéphale après lésion unilatérale du bulbe olfactif. Ils attribuent cet effet à la dégénérescence de neurones NA, ayant des corps cellulaires localisés dans le bulbe olfactif, et qui ont été sectionnés par la lésion. Si cette explication est la bonne, l'absence de modification dans l'activité HD après sections bilatérales des lobes olfactifs peut indiquer une absence de neurones histaminergiques dans les bulbes olfactifs.

5. SECTION FRONTALE (DIENCEPHALIQUE) AU NIVEAU SUPRACHIASMATIQUE

1. Section :

Tout d'abord, une hémisection cérébrale fut faite, au niveau suprachiasmatique, 0,2 mm du bord de la ligne médiane, soit à droite, soit à gauche selon des groupes, avec une spatule de 3 mm de large bien effilée. 3 jours plus tard une 2e hémisection est pratiquée du côté contralatéral. Les coordonnées suivantes ont été retenues pour ces hémisections : A - 7,5 mm ; L - 0,2 mm (le bord de la spatule proche de la ligne médiane étant positionné à cette latéralité) ; H - 8,0 mm; la spatule est descendue 3 fois progressivement jusqu'à 8 mm en dessous de la surface dorsale du cerveau. La localisation de la section a été confirmée par l'examen histologique de 4 cerveaux après coloration à la thionine (1 %) des coupes sagittales de 100 μ d'épaisseur.

2. Résultats :

Les animaux sont sacrifiés environ une semaine après la première hémisection et le taux d'HA ainsi que l'activité HD sont mesurés dans le cortex, l'hippocampe, l'hypothalamus (médian et postérieur seulement) et le bulbe-pont. Il y a une

augmentation significative de l'HA hypothalamique (145 % - $p<0,01$) sans modification notable dans les autres régions analysées. De plus il y a une diminution significative de l'activité HD dans le cortex et l'hippocampe (52 % - $p<0,01$ et 42 % - $p<0,01$, respectivement) tandis que dans l'hypothalamus et le bulbe-pont, l'activité HD augmente de 56 % ($p<0,05$) et 32 % (ns) respectivement (tableau 9).

3. Discussion et conclusion :

Environ une semaine après cette section diencéphalique, le taux d'HA hypothalamique est significativement augmentée (145 % - $p<0,05$) sans qu'il soit modifié dans les autres régions. Ceci peut être dû à une accumulation de l'amine dans la partie proximale des axones (du côté des corps cellulaires) après section, résultant du transport rapide des granules de stockage de l'amine depuis les corps cellulaires vers les terminaisons des axones, comme l'ont rapporté, pour les monoamines Dahlström et Fuxe (1964,a,b). Dans ce travail, nous avons pensé qu'il serait très utile d'étudier, en plus des modifications du taux de l'amine, les variations de l'activité de l'enzyme synthétisant l'HA. Les travaux de Kuhar et coll. (1971a) ont en effet bien montré que l'activité de la tryptophane hydroxylase [illegible] plus rapidement et plus significativement abaissée après une lésion des noyaux du raphé, que ne l'était la 5-HT elle-même.

Dans ce travail, après section bilatérale au niveau suprachiasmatique il y a une baisse significative de l'activité HD dans des régions rostrales à la section, c'est-à-dire dans l'hippocampe et le cortex (42 % et 50 % respectivement) et une augmentation dans des régions caudales à la section, c'est-à-dire dans l'hypothalamus et le bulbe-pont (56 % et 32 % respectivement). En ce qui concerne les augmentations d'activité HD dans l'hypothalamus et le bulbe-pont, elles peuvent être expliquées comme étant dues à une accumulation, jusqu'au point de section de l'enzyme synthétisé dans les corps cellulaires des neurones et transportée le long des axones jusqu'aux ter-

[illegible] [illegible]	[illegible]		[illegible]	
	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	([illegible])		([illegible])	
Hypothalamus (régions médiane et postérieure)	1143±111	1789±336	279±17	[illegible]
	(+56 %)*		([illegible])**	
Hippocampe	146±13	62±4	24±2	29±[illegible]
	([illegible])		([illegible])	
Cortex	34[illegible]±13	178±13	37±3	45±4
	(-52 %)**		(+22 %)	

* p<0,05 ** p<0,01 - par rapport aux valeurs témoins

Tableau 9 : Effet de sections frontales diencéphaliques (au niveau suprachiasmatique) sur le taux d'HA [illegible]

minaisons nerveuses. D'autre part les baisses significatives de l'activité HD dans le cortex et l'hippocampe sont comparables à la réduction de l'activité de la tyrosine hydroxylase (Heller et coll., 1969) et des 5-hydroxytryptophane et DOPA décarboxylases (Heller et coll., 1965 ; Heller et coll., 1966 ; Moore et coll., 1966) notées dans les aires télencéphaliques citées ci-dessus, après destruction du FMT. Cette observation suggère que l'interruption du FMT par la section pourrait être responsable des baisses de l'activité HD. Cependant, en ce qui concerne NA et 5-HT, la destruction du FMT par des lésions de l'hypothalamus entraîne aussi une réduction du taux des amines, 5-HT (Heller et coll., 1962) et NA (Heller et Harvey, 1963 ; Heller et Moore, 1965) dans les aires du télencéphale rostrales à la lésion. Heller en 1972 montra que le déficit biochimique primaire entraîne une forte réduction des taux de 5-HT et NA cérébrales après lésion du FMT était dû à une perte des activités enzymatiques essentielles à la biosynthèse de ces monoamines. Dans ce travail, par contre, la baisse d'activité HD n'est pas accompagnée par une diminution du taux d'HA cérébrale -après lésion du FMT nous n'avons pas obtenu de modification du taux de HA cérébrale- ce qui suggère que les "possibles" terminaisons histaminergiques n'émanent pas du FMT. La diminution significative de l'activité HD obtenue après section cérébrale nous amène à reconsidérer cette conclusion en tenant compte de la remarque de Baudry et coll., 1973 qui notent que l'HD est un meilleur marqueur biochimique, en ce qui concerne les neurones histaminergiques, que l'amine elle-même. Cette suggestion est basée sur le fait que la voie de développement de HD dans le cerveau de rat nouveau né (Schwartz et coll., 1971a) semble être en relation plus étroite avec la synaptogénèse (Aghajanian et Bloom, 1967) que l'amine elle-même.

En conclusion :

Ces résultats montrent clairement qu'une baisse très importante de l'HD (cortex et hippocampe) peut ne pas s'accompagner de variation significative du taux de l'amine. Cela suggère

Durant ces dernières années, on a porté beaucoup d'intérêt aux amines cérébrales ayant un rôle biologique ; cependant, l'HA a été beaucoup moins étudiée que la 5-HT, les CA et l'ACh. Alors que le rôle médiateur synaptique de ces dernières est généralement admis, notre connaissance de l'HA cérébrale est encore très incomplète, probablement parce que

1) le taux de l'HA cérébrale est très bas (10 fois plus faible que celui de la 5-HT et de la NA ;

2) des méthodes d'analyse biochimique, spécifiques et sensibles, ne sont au point que depuis peu. Néanmoins, la présence de l'HA dans le cerveau, accompagnée des systèmes enzymatiques nécessaires à sa synthèse et à sa dégradation, sa distribution non uniforme -les concentrations les plus élevées se trouvant dans l'hypothalamus-, les modifications de la transmission synaptique qu'elle induit par application iontophorétique sur des neurones corticaux, sa localisation subcellulaire dans les synaptosomes et les vésicules synaptiques surtout, permettent d'attribuer à cette amine un rôle éventuel de neuromédiateur.

La localisation de neurones histaminergiques n'a pu être faite jusqu'à présent, mais elle serait d'un intérêt évident pour préciser le rôle fonctionnel de l'HA.

Des deux principales approches expérimentales déjà utilisées pour la mise en évidence des neurones monoaminergiques centraux, l'une, la méthode d'histofluorescence, n'est pas encore applicable à l'HA cérébrale. Nous avons résolu d'utiliser la méthode [illegible], associée à une analyse biochimique qui avait, par exemple, permis à Heller et coll. de localiser les fibres noradrénergiques et sérotoninergiques dans le FNT. Le présent travail a donc consisté à analyser régionalement les taux d'HA, et l'activité des enzymes de son métabolisme, après dégénérescence Wallérienne induite par différentes lésions électrolytiques de faisceaux nerveux déterminés ou par section frontale du cerveau à différents niveaux afin de préciser les quelques données préexistantes concernant

.../...

l'existence possible de terminaisons nerveuses histaminergiques. Ce travail regroupe des données obtenues à partir des études suivantes :

I Effet de lésions du faisceau médian du télencéphale sur l'histamine cérébrale.

II Lésions unilatérales centrées sur le noyau rouge.

III Recherche d'afférences en amont de l'hypothalamus.

Nous pouvons rapporter brièvement les faits les plus marquants obtenus dans ces trois directions de recherche.

I Lésions mésencéphaliques et hypothalamiques

Par suite de la similitude de la distribution régionale de l'HA et des monoamines dans le cerveau de rat, l'existence de fibres histaminergiques a tout d'abord été recherchée dans le FMT, qui contient la majorité des voies monoaminergiques. Tout d'abord, des lésions électrolytiques unilatérales ont été faites au niveau du mésencéphale centrées sur le noyau rouge, et s'étendant de la substance noire à la substance grise centrale mésencéphalique, ainsi que l'a démontré l'examen histologique- pour détruire les fibres nerveuses contribuant au FMT.

Deux à trois semaines après la lésion, le taux de 5-HT est abaissé de 40 %, ce qui confirme l'exactitude de la localisation de la lésion. Par contre, aucune modification du taux de l'HA n'est observé dans ces conditions.

A ce stade, la répartition régionale des amines après lésion,a été étudiée, pour déceler une éventuelle baisse localisée, qui aurait pu être masquée par l'analyse du cerveau entier. Aucune altération significative du taux de l'HA n'est constatée dans les différentes régions, ce qui confirme les résultats obtenus avec le cerveau entier, alors que

.../...

réductions de 35 à 77 % des taux de 5-HT et de l'HA sont observées dans les régions situées en avant de la lésion.

Par la suite, au niveau de l'aire hypothalamique latérale, où il se présente comme un faisceau compact et non croisé, le FMT a été détruit. Cette lésion unilatérale (au niveau du noyau interpédonculaire, d'après l'examen histologique) entraîne une réduction importante des taux de 5-HT et de HA dans le cortex, l'hippocampe et les corps striés, sans qu'aucune modification des taux de l'HA, ni de l'activité de l'HDC, ne soit constatée.

Il apparait ainsi que l'intégrité du FMT n'est pas essentielle pour le maintien d'un taux normal d'HA, contrairement à ce qui est observé pour les autres amines. Cette discordance correspond au fait que s'il existe des fibres histaminergiques ce qui permet d'expliquer la présence d'HA dans la partie correspondant aux synaptosomes d'un fractionnement subcellulaire, ces fibres pourraient suivre d'autres trajets que celui du FMT, ou encore l'élément pris en considération comme reflet de l'intégrité des voies histaminergiques pourrait être un témoin très peu sensible.

II Lésions diencéphaliques

Elles ont eu pour but tout premier de déterminer si le fornix contenait les fibres histaminergiques. Cette éventualité était à étudier, étant donné que ce faisceau constitue la principale afférence aux corps mamillaires, la structure cérébrale la plus riche en HA.

Deux mois après la lésion (localisée entre la commissure antérieure et les noyaux thalamiques antérieurs, selon l'examen histologique) et, de manière inattendue, le taux de l'HA dans l'hypothalamus est fortement augmenté ; il demeure inchangé dans les autres régions du cerveau. La distribution subcellulaire de l'HA hypothalamique après lésion

.../...

montre que cette augmentation se retrouve dans les trois fractions nucléaires, mitochondriale et surnageante, obtenues selon la méthode de Whittaker. D'autre part, les concentrations hypothalamiques de NA et de 5-HT ne sont pas modifiées par ce type de lésion.

L'étude cinétique de l'augmentation de l'HA, entreprise afin d'élucider le mécanisme du phénomène, montre que, inexistante quatre h après la lésion, elle débute de façon non significative au bout de cinq jours, et atteint graduellement 50 à 100 % (p<0,1) deux mois après l'opération ; cette augmentation est encore présente après quatre mois. Pour préciser éventuellement la structure hypothalamique concernée par une telle élévation du taux de l'HA, cette amine a été dosée dans l'hypothalamus disséqué en trois parties (antérieure, moyenne et postérieure) 60 jours après la lésion, c'est-à-dire au moment où la variation est la plus forte. Toutefois, l'augmentation de l'amine se révèle être comparable dans les trois parties analysées ; elle s'accompagne d'une élévation de l'activité de l'HD, sans que l'activité de l'HMT ne soit affectée.

Différentes hypothèses peuvent expliquer cette élévation du taux de l'HA hypothalamique, après lésion du fornix. La cinétique de l'apparition de ce phénomène ne semble compatible ni avec une diminution de la libération d'HA, par suite de l'interruption de l'activité électrique neuronale, ni avec une interruption du transport axonal des granules de stockage de l'amine entraînant une accumulation en avant de la lésion, ou dans les collatérales des axones sectionnés. L'apparition de nouveaux types de cellules riches en HA paraît improbable, dans la mesure où aucun mastocyte n'a été décelé autour de la lésion (ce qui est confirmé d'ailleurs par l'augmentation uniforme dans les différentes fractions subcellulaires), et où les cellules gliales, qui envahissent le site lésé, semblent [illegible] l'HA. La réaction inflammatoire se limite au strict voisinage de la lésion, tandis que l'élévation de l'HA se retrouve dans tout l'hypothalamus et se prolonge pendant au moins quatre mois.

.../...

Finalement, compte tenu de la cinétique et de la distribution subcellulaire de l'élévation du taux de l'HA hypothalamique, accompagnée de l'augmentation de l'HD, l'hypothèse d'un bourgeonnement de collatérales, à partir de neurones histaminergiques intacts à la suite de la lésion apparait la plus vraisemblable. Il est évident que la preuve définitive d'un tel processus ne peut être apportée que par des techniques de visualisation telles que l'histochimie. Les présents résultats indiquent la localisation possible de neurones histaminergiques dans un ou plusieurs systèmes afférents ou efférents à l'hypothalamus et plus particulièrement aux corps mammillaires.

III Sections frontales en avant de l'hypothalamus

Les expériences précédentes suggéraient l'existence possible de terminaisons histaminergiques dans l'hypothalamus. Pour essayer de confirmer cette hypothèse, de larges sections ont été tentées soit en arrière, soit en avant de cette structure. Les premières se sont avérées difficilement compatibles avec une survie prolongée des rats. Nous avons donc étudié les effets de sections antérieures, pratiquées dans le diencéphale. Par ailleurs, les effets d'un isolement du bulbe olfactif ont été recherchés dans un but analogue.

A. Isolement du bulbe olfactif

Les lésions pratiquées au niveau septal ont non seulement atteint le fornix mais se sont étendues de manière plus ou moins régulière vers le noyau du septum dont on connait les relations avec le lobe olfactif. Afin de ne pas négliger une origine rostrale de fibres histaminergiques, nous avons pratiqué une section des lobes olfactifs sur un groupe d'animaux.

L'isolement du bulbe olfactif n'a entraîné aucune modification de l'activité HD mesurée dans l'hippocampe et l'hypothalamus indiquant une absence de neurones histaminergiques dans les bulbes olfactifs.

B. Section frontale (diencéphalique) au niveau suprachiasmatique :

Il y a une augmentation significative de l'HA hypothalamique sans modification notable dans les autres régions analysées. Cette augmentation peut être due à une accumulation de l'amine dans la partie proximale des axones (du côté des corps cellulaires) après section. De plus, il y a une baisse significative de l'activité HD dans des régions rostrales à la section -l'hippocampe et le cortex- et une augmentation dans des régions caudales à la section -l'hypothalamus et le bulbe-pont. Ces augmentations peuvent être expliquées par une accumulation de l'enzyme du côté proximal de la lésion due à une interruption du flux axonal. D'autre part, les baisses significatives d' l'activité HD dans le cortex et l'hippocampe sont comparables à la réduction de l'activité de la tyrosine hydroxylase et des 5-hydroxytryptophane et DOPA décarboxylases notées dans les aires télencéphaliques après destruction de FMT. Cette observation suggère que l'interruption du FMT par la section pourrait être responsable des baisses de l'activité HD. Cependant, en ce qui concerne NA et 5-HT, la destruction du FMT par des lésions de l'hypothalamus entraîne aussi une réduction du taux des amines dans les aires du télencéphale rostrales à la lésion.

La diminution significative de l'activité HD obtenue après section cérébrale nous amène à reconsidérer cette conclusion en tenant compte de la remarque de Baudry et coll., (1973) qui notent que l'HD est un meilleur marqueur biochimique, en ce qui concerne les neurones histaminergiques, que l'amine elle-même. Ces résultats montrent clairement qu'une baisse très importante de l'HD (cortex et hippocampe) peut ne pas s'accompagner de variation significative du taux de l'amine. Cela suggère l'existence d'un important compartiment non neuronal de l'HA.

.../...

En conclusion, ces études n'ont pas encore permis de tracer les voies histochimiques complètes des faisceaux monoaminergiques dans le [illegible], mais ont apporté quelques arguments en faveur de l'existence de fibres histaminergiques reliées à l'hypothalamus, et [illegible] le [illegible] pourrait être [illegible] par [illegible] lésions [illegible]. [illegible], les résultats obtenus à partir de ce [illegible] nous permettent d'envisager [illegible] la possibilité [illegible] de fibres histaminergiques dans le SNC.

B I B L I O G R A P H I E

ABEL, J.J. et KUBOTA, S. - (1919) Presence of histamine (4-imidazole-éthylamine) in the hypophysis cerebri and other tissues of the body and its occurrence among the hydrolytic decomposition products of proteins.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 13, 243.

ADAM, H.M. - (1961) Histamine in the central nervous system and hypophysis of the dog.
In Regional Neurochemistry, ed. Kety, S.S. and Elkes, J. (Pergamon Press : Oxford, London, New York, Paris).

ADAM, H.M. et HYE, H.K.A. - (1966) Concentration of histamine in different parts of brain and hypophysis of cat and its modification by drugs.
Brit. J. Pharmacol. 28, 137-152.

ADAM, H.M., HYE, H.K.A. et WATON, N.G. - (1964) Studies on uptake and formation of histamine by hypophysis and hypothalamus in the cat.
J. Physiol. (London) 175, 70-71.

AGHAJANIAN, G.K. et BLOOM, F.E. - (1967) The formation of synaptic junctions in developing rat brain : a quantitative electron microscopic study.
Brain Res. 6, 716-727.

AGRAWAL, H.C., DAVIS, J.M. et HINWICH, W.A. - (1966) Postnatal changes in free aminoacid pool of rat brain.
J. Neurochem. 13, 607-615.

.../...

ALBE-FESSARD, D., STUTINSKY, F. et LIEOUBAN, S. - (1971)
Atlas stéréotaxique du Diencéphale du Rat Blanc,
C.N.R.S., Paris.

AMIN, A.H., CRAWFORD, T.B.B. et GADDUM, J.H. - (1954)
The distribution of substance P and 5-hydroxy-tryptamine in the central nervous system of the dog.
J. Physiol. (London) 126, 596.

ANDEN, N.-E., CARLSSON, A., DAHLSTROM, A., FUXE, K., HILLARP, N.-A. et LARSSON, K. - (1964) Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine neurons.
Life Sci. (Oxford) 3, 523-530.

ANDEN, N.-E., CORROLI, H., FUXE, K. et UNGERSTEDT, U. - (1971)
Importance of nerve impulse flow for the neuroleptic inauced increase in amine turnover in central dopamine neurons.
Eur. J. Pharmacol. 15, 193-199.

ANDEN, N.-E., DAHLSTROM, A., FUXE, K. et LARSSON, K. - (1965a)
Mapping out of catecholamine and 5-hydroxytryptamine neurons innervating the telencephalon and diencephalon.
Life Sci. (Oxford) 4, 1275-1279.

ANDEN, N.-E., DAHLSTROM, A., FUXE, K. et LARSSON, K. - (1965b)
Further evidence for the presence of nigroneostriatal dopamine neurons in the rat.
Acta. Physiol. Scand. 116, 249-134.

ANDEN, N.-E., DAHLSTROM, A., FUXE, K., LARSSON, K., OLSON, L. et UNGERSTEDT, U. - (1966) Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon.
Acta. Physiol. Scand. 67, 313-326.

.../...

AURES, D., HÅKANSON, R. et CLARK, G. - (1970) Histidine decarboxylase and DOPA decarboxylase.
In Handbook of Neurochemistry, IV, 155, ed. Lajtha, A. (Plenum Press : New-York).

AXELROD, J.W., MacLEAN, P.D., ALBERS, R.W. et WEISSBACH, H. - (1961) Regional distribution of methyltransferase enzymes in the nervous system and glandular tissues.
In Regional Neurochemistry, ed. Kety, S.S. and Elkes, J. (Pergamon Press : Oxford, London, New-York, Paris).

BATTISTIN, L., GRYNBAUM, A. et LAJTHA, A. - (1971) The uptake of various aminoacids by mouse brain in vivo.
Brain Res. 29,85-89.

BAUDRY, M., MARTRES, M.-P. et SCHWARTZ, J.-C.
Communication personnelle.

BAUDRY, M., CHAST, F. et SCHWARTZ, J.-C. - (1973a) Studies on S-Adenosylhomocysteine inhibition of histamine transmethylation in brain.
J. Neurochem. 20, 13-21.

BAUDRY, M., MARTRES, M.-P. et SCHWARTZ, J.-C. - (1973b) The subcellular localization of histidine decarboxylase in various regions of rat brain.
J. Neurochem. (In Press).

BEAVEN, M.A. et JACOBSEN, S. - (1971) A new assay for histaminase activity : Measurement of tritiated water from B (side chain label) -H^3- histamine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 176, 52-64.

BENNETT, D.S. et GIARMAN, N.J. - (1965) Schedule of appearance of 5-hydroxytryptamine and associated enzymes in the developing rat brain.
J. Neurochem. 12, 911-918.

BERNSTEIN, J.J. et BERNSTEIN, M.E. - (1971) Axonal regeneration and formation of synapses proximal to the site of lesion following hemisection of the rat spinal cord. Exp. Neurol. 30, 336-351.

BEST, C.H., [illegible], W.V. - (1927) The nature of the vaso-dilator constituents of certain tissue extracts. J. Physiol. (Tondon) 62, 397.

BHARGAVA, K.P. et [illegible], K.S. - ([illegible]) Role of the chemoreceptor trigger zone in histamine induced emesis. Brit. J. Pharmacol. 34, [illegible].

BJÖRKLUND, A. et STENEVI, U. - (1971) Growth of central catecholamine neurons into smooth muscle grafts in the rat mesencephalon. Brain Res. 31, 1-20.

BLOOM, F.E., HOFFER, B.J. et SIGGINS, G.R. - (1971) Studies on norepinephrine-containing afferents to Purkinje Cells of rat cerebellum. I-Localization of the fibres and their [illegible]

[illegible] Actualités Pharmacologiques, XXIVème séries, 51-93.

BOVET, D., KOHN, R., MAROTTA, M. et SILVESTRINI, B. - (1958) Some effects of histamine : normal and Haemophilus pertussis vaccinated rat. Brit. J. Pharmacol. 13, [illegible]

BRANDON, A. - (1955) Etude 3lectrocardiographique et électromyélographique de l'action de l'histamine. Arch. Int. Physiol. 63, 62.

BREESE, G.R. et LEWIS TRAYLOR, T. - (1970) Effect of 6-hydroxydopamine on brain norepinephrine and dopamine : Evidence for selective degeneration of catecholamine neurons.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 174, 413-420.

BREZNIOFF, M.L. et LOMAX, P. - (1970) Temperature changes following microinjection of histamine into the thermoregulatory centres of the rat.
Experientia 26, 51.

BROWN, D.D., TOMCHICK, R. et AXELROD, J. - (1959) The distribution and properties of a methylating enzyme.
J. Biol. Chem. 234, 2948.

BROWN, G.L. et FELDBERG, W. - (1936) The action of potassium on the superior cervical ganglion of the cat.
J. Physiol. (London) 86, 290-305.

BURKARD, W.P., GEY, K.F. et PLETSCHER, A. - (1962)

Experientia, 18, 411.

BURKARD, W.P., GEY, K.F. et PLETSCHER, A. - (1963) Diamine oxidase in the brain of vertebrates.
J. Neurochem. 10, 185-186.

BURKARD, W.P., GEY, K.F. et PLETSCHER, A. - (1964)

Archs. Bioch. Biophys. 107, 187.

CANNON, W.B. et LISSAK, K. - (1939) Evidence for Adrenaline in Adrenergic neurons.
Am. J. Physiol. 125, 765-777.

.../...

CARLINI, E.A. et GREEN, J.P. - (1963) The subcellular distribution of histamine, slow-reacting substance and 5-hydroxytryptamine in the brain of rat.
Brit. J. Pharmacol. 20, 264-277.

CARLSSON, A., FALCK, B. et HILLARP, N.-Å. - (1962a) Cellular localization of brain monoamines.
Acta Physiol. Scand. 56, suppl. 196, 1-28.

CARLSSON, A., FALCK, B., HILLARP, N.-Å., et TORP, A. - (1962c) Histochemical localization at the cellular level of hypothalamic noradrenaline.
Acta Physiol. Scand. 54, 385-386.

CLARK, W.E., LE GROS et BOGGON, R.H. - (1933) On the connections of the anterior nucleus of the thalamus.
J. Anat. (London) 67, 215-226.

COHN, V.H. - (1965) Inhibition of histamine methylation by antimaterial drugs.
Biochem. Pharmacol. 14, 1686-1688.

CURTIS, D.R. - (1961) The identification of mammalian inhibitory transmitters.
In Nervous Inhibition, ed. Florey, E. (Pergamon Press : New-York).

CURTIS, D.R. et LAVIS, R. - (1962) Pharmacological studies upon neurones of the lateral geniculate nucleus of the cat.
Brit. J. Pharmacol. 18, 217-246.

CURTIS, D.R. et ECCLES, R.M. - (1958) The excitation of Renshaw cells by pharmacological agents applied electrophoretically.
J. Physiol. (London) 141, 435-445.

CURTIS, D.R., PHILLIS, J.W. et WATKINS, J.C. - (1959) Cholinergic and noncholinergic transmission in the mammalian spinal cord.
J. Physiol. (London) 158, 296-323.

CURZON, G. et GREEN, A.R. - (1970) Rapid method for indoleacetic and in small regions of rat brain.
Brit. J. Pharmacol. 39, 653-655.

DAHLSTRÖM, A. et FUXE, K. - (1964a) A method for the demonstration of monoamine containing nerve fibres in the central nervous system.
Acta Physiol. Scand. 60, 293-295.

DAHLSTRÖM, A. et FUXE, K. - (1964b) Evidence for the existence of monoamine - containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons.
Acta Physiol. Scand. 62, Suppl. 232,1.

DAHLSTRÖM, A. et FUXE, K. - (1965) Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. II. Experimentally induced changes in the intraneuronal amine levels of bulbospinal neuron systems.
Acta Physiol. Scand. 64, Suppl. 247, 1-36.

DALE, H.H. et LAIDLAW, P.P. - (1910) The physiological action of B - iminazolylethylamine.
J. Physiol. (London) 41, 318.

DALE, H.H. et LAIDLAW, P.P. - (1912) Further observation on the action of B - iminazolylethylamine.
J. Physiol. (London) 43, 182.

EULER, U.S. von - (1946) A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibres (Sympathin) and its relations to adrenaline and noradrenaline.
Acta Physiol. Scand. 12, 73.

EULER, U.S. von et PURKHOLD, A. - (1951) Effect of sympathetic denervation on the noradrenaline and adrenaline content of the spleen, kidney and salivary glands in Sheep.
Acta Physiol. Scand. 24, 212-217.

FALCK, B. et HILLARP, N.-Å. - (1959) On the cellular localization of catecholamines in the brain.
Acta Anat. 38, 277-279.

FAULL, R.L.M. et LAVERTY, R. - (1969) Changes in dopamine levels in the corpus striatum following lesions in the substantia nigra.
Exp. Neurol. 23, 332-340.

FELDBERG, W. et SHERWOOD, S.L. - (1954) Injections of drugs into the lateral ventricle of the cat.
J. Physiol. (London) 123, 148-167.

FONNUM, F. - (1970) In drugs and cholinergic mechanisms in the CNS, 83-96, ed. Heilbronn, E. and Winter, A. (Försvarets forsknings organisation : Stockholm.)

FONNUM, F. - (1972) Application of microchemical analysis and subcellular fractionation techniques to the study of neurotransmitters in discrete areas of mammalian brain.
Advances in Biochem. Psychopharmacol. 6, 75.

FORN, J. et KRISHNA, G. - (1971) Effect of norepinephrine, histamine and other drugs on cyclic 3',5' - AMP formation in brain slices of various animal species.
Pharmacology 5, 193-204.

FUXE, K. - (1965a) Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. III. The monoamine nerve terminal.
Z. Zellforsch. 65, 573-596.

.../...

FUXE, K. - (1965b) Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. IV. The distribution of monoamine nerve terminals in the central nervous system.
Acta Physiol. Scand. 64, Suppl. 247, 39-85.

FUXE, K., HÖKFELT, T. et UNGERSTEDT, U. - (1968) Localization of indole alkylamines in CNS.
In Advances in Pharmacology, 6A, 235-251, ed. Costa, E. et Sandler, M. (Academic Press : London).

FUXE, K., HÖKFELT, T. et UNGERSTEDT, U. - (1970) Morphological and functional aspects of central monoamine neurons.
Int. Rev. Neurobiol. 13, 93-126.

GLOWINSKI, J. et BALDESSARINI, R. - (1966) Metabolism of norepinephrine in the central nervous system.
Pharmacol. Rev. 18, 1201-1238.

GLOWINSKI, J. et IVERSEN, L.L. - (1966) Regional studies of catecholamines in the rat brain. The disposition of ^{3}H-norepinephrine, ^{3}H- dopamine and ^{3}H-DOPA in various regions of the brain.
J. Neurochem. 13, 655-669.

GOLDSTEIN, M., ANAGNOSTE, B., BATTISTA, A., OWEN, W. et NAKATANI, S. - (1969) Studies of amines in the striatum in monkeys with nigral lesions. The disposition, biosynthesis and metabolites of (^{3}H) dopamine and (^{14}C) serotonin in the striatum.
J. Neurochem. 16, 645-653.

GREEN, J.P. - (1970) Histamine.
In Handbook of Neurochemistry, IV, 221-250, ed. Lajtha, A. (Plenum, : New-York).

GREEN, J.P. et FURANO, A.V. - (1962) Two pools for amines in neoplastic mast cells.
Biochem. Pharmacol. 11, 1049-1053.

GUILLERY, R.W. - (1956) Degeneration in the post-commissural fornix and the mamillary peduncle of the rat.
J. Anat. (London) 90, 350-370.

GUILLERY, R.W. - (1957) Degeneration in the hypothalamic connexions of the albino rat.
J. Anat. (London) 91, 91-115.

HAGEN, P., BARRNETT, R.J. et LEE, F.L. - (1959) Biochemical and electron microscopic study of particles isolated from mastocytoma cells.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 126, 91-97.

HÅKANSON, R. - personal communication cited by [illegible] et coll., (1973).
Brain Res. 50, 361-367.

HALPERN, B.N., NEVEU, T. et WILSON, C.H.W. - (1959) The distribution and fate of radioactive histamine in the rat.
J. Physiol. (London) 147, 437-440.

HELLER, A. - (1972) Neuronal control of brain serotonin.
Federation Proc. 31, 81-90.

HELLER, A., BHATNAGAR, R.K. et MOORE, R.Y. - (1969)
Proceedings of [illegible] International Congress of Neuro-[illegible].
In Progress in Neuro-genetics. I.
Excerpta Medica International Congress, 175, 283-286.
(Amsterdam).

[illegible]
Pharmacologist 5, 264.

HELLER, [illegible] (19[illegible])
A demonstration of a fall in brain serotonin following central nervous system lesions in rat.
[illegible] 11, [illegible].

HELLER, A. et [illegible] - ([illegible]) Effect of central nervous system [illegible] on brain [illegible] in the rat.
[illegible]

HELLER, A. et [illegible] - (196[illegible]) [illegible] of brain serotonin [illegible] by specific neural systems.
[illegible] 6, [illegible].

HELLER, A., [illegible] et [illegible] - ([illegible])
[illegible] in rat brain :
Effect of hypothalamic lesions.
Science 147, 887-888.

HELLER, A., SEIDEN, L.S., PORCHER, W. et MOORE, R.Y. - (1966)
Regional effects of lateral hypothalamic lesions on brain 5-hydroxytryptophan decarboxylase in the cat.
J. Neurochem. 13, 967-974.

HOFFER, B.J., SIGGINS, G.R. et BLOOM, F.E. - (1971) Studies on norepinephrine containing afferents to Purkinje cells of rat cerebellum. II. Sensitivity of Purkinje cells to norepinephrine and related substances administered by microiontophoresis.
Brain Res. 25, 523-536.

HÖKFELT, T. - (1967) On the ultrastructural localization of noradrenaline in the central nervous system of the rat.
Z. Zellforsch. 79, 110-117.

HÖKFELT, T. - (1968) In vitro studies on central and peripheral monoamine neurons at the ultrastructural level.
Z. Zellforsch. (In Press) cited by Fuxe, K. et coll. (1968) In Metabolism of Amines in the Brain : Proceedings of the Symposium of the British and Scandinavian Pharmacological Societies (Macmillan : Edinburgh).

HUANG, M., SHIMIZU, H. et DALY, J.W. - (1971) Regulation of adenosine cyclic 3',5'-[illegible] formation in cerebral cortical slices; [illegible] norepinephrine, histamine, [illegible].
Molec. Pharmacol. 7, [illegible].

[illegible], [illegible] et [illegible]. - ([illegible]) [illegible]
[illegible]
[illegible]

[illegible] - ([illegible]) [illegible] of histamine in [illegible]
[illegible]
[illegible], 11, [illegible].

[illegible], [illegible] et [illegible], [illegible] - ([illegible]) [illegible] to the physiology of histamine.
Physiol. Rev. 48, 155-196.

KAHLSON, G., ROSENGREN, E., SVAHN, D. et THUNBERG, R. - (1964) Mobilization and formation of histamine in the gastric mucosa as related to acid secretion.
J. Physiol. (London) 174, 400-416.

[illegible] - ([illegible])
The site of increased formation of histamine in the pregnant rat.
J. Physiol. (London) 144, 337.

KAKIUCHI, S. et RALL, T.W. - (1968) The influence of chemical agents on the accumulation of adenosine 3'5' [illegible]
[illegible]
[illegible].

KARKI, N., KUNTZMAN, R. et BRODIE, B.B. - (1962) Storage, synthesis and metabolism of monoamines in the developing rat brain.
J. Neurochem. 9, 53-58.

KATAOKA, K. et de ROBERTIS, E. - (196[illegible]) [illegible] in isolated small nerve endings and synaptic vesicles of rat brain cortex.
[illegible]

KELSALL, [illegible] et LEWIS, [illegible] - [illegible] Mast cells in the brain.
[illegible]

K[illegible], [illegible] et [illegible] - [illegible] p-chlorophenylalanine - [illegible] with the two forms of [illegible] hydroxylase.
[illegible]

KORF, J. et VAN PRAAG, H.M. - (1971) Amine metabolism in the human brain : further evaluation of the probenecid test.
Brain Res. 35, 221-230.

KORNBERG, A. - (1955) Methods in Enzymology, I, 441, ed. Colowick S.P. and Kaplan, N.O. (Academic Press : New-York).

KREMZNER, L.T. - (1966) A micro fluorometric method for determining spermidine.
Anal. Biochem. 15, 270-277.

KREMZNER, L.T. et PFEIFFER, C.C. - (1965) Identification of substances interfering with the fluorometric determination of brain histamine.
Biochem. Pharmacol. 14, 1189-1195.

KRNJEVIC, K. et PHILLIS, J.W. - (1963) Actions of certain amines on cerebral cortical neurons.
Brit. J. Pharmacol. 20, 471-490.

KUCZENSKI, R.T. et MANDELL, A.J. - (1972) Regulatory properties of soluble and particulate Rat brain hydroxylase.
J. Biol. Chem. 247, 3114-3122.

KUHAR, M.J. et AGHAJANIAN, G.K. - Cited by Snyder, S.H. (1972) Histamine in the brain : a neurotransmitter ? In Perspectives in Neuropharmacology, (Oxford University Press : New-York).

KUHAR, M.J., ROTH, R.H. et AGHAJANIAN, G.K. - (1971) Selective reduction of tryptophan hydroxylase activity in rat forebrain after midbrain raphe lesions. Brain Res. 35, 167-176.

KUHAR, M.J., TAYLOR, K.M. et SNYDER, S.H. - (1971) The subcellular localization of histamine and histamine methyltransferase in rat brain. J. Neurochem. 18, 1515-1527.

KWIATKOWSKI, H. - (1943) Histamine in nervous tissue. J. Physiol. (London) 102, 32-41.

LOVENBERG, W., WEISSBACH, H. et UDENFRIEND, S. - (1962) Aromatic-L-aminoacid decarboxylase. J. Biol. Chem. 237, 89-93.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. et RANDALL, R.J. - (1951) Protein measurements with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.

Mac INTOSH, F.C. - (1938) L'effet de la section des fibres préganglionnaires sur la teneur en acétylcholine du ganglion sympathique. Arch. Int. Physiol. 47, 321-324.

MACKAY, D. et SHEPERD, D.M. - (1960) A study of potential histidine decarboxylase inhibitors. Brit. J. Pharmacol. 15, 552-556.

MARSDEN, C.A., [illegible], Jr. et [illegible] - (1972) Effect of nigral and raphe lesions on the catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase activities in the rat striatum.
Eur. J. Pharmacol. [illegible], [illegible].

MEDINA, M. et SHORE, P.A. - (1966) Increased sensitivity in a specific fluorometric method for brain histamine.
Biochem. Pharmacol. [illegible], 1627-16[illegible].

MELLANBY, E. et TWORT, F.W. - (1912) On the presence of β-iminazolethylamine in the intestinal wall ; with a method of isolating a bacillus from the alimentary canal which converts histidine into this substance.
J. Physiol. (London) 45, [illegible].

MICHAELSON, I.A. et COFFMAN, P.Z. - (1967) The sub-cellular localization of histamine in guinea pig brain -A re-evaluation.
Biochem. Pharmacol. 16, 2085-2090.

MICHAELSON, I.A., COFFMAN, P.Z. et VEDRAL, D.F. - (1968) The regional distribution of histamine in brain of the Rhesus monkey (Macaca mulatta).
Biochem. Pharmacol. [illegible].

MICHAELSON, I.A. et DOWE, G.H.C. - (1963) The subcellular distribution of histamine in brain tissue.
Biochem. Pharmacol. 12, 949-956.

MICHAELSON, I.A. et WHITTAKER, V.P. - (1962) The subcellular distribution of histamine in guinea pig brain.
Biochem. [illegible]

MOORE, R.Y. - (1970) Brain lesions and amine metabolism.
Int. Rev. Neurobiol. 13, 67-91.

MOORE, R.Y., BHATNAGAR, R.K. et HELLER, A. - (1966) Norepinephrine and DOPA decarboxylase in rat brain following hypothalamic lesions. [illegible]

MOORE, [illegible] - (1971) [illegible] of the noradrenergic innervation of the [illegible] after [illegible] reinnervation. Brain Res. [illegible]

MOORE, R.Y. et HELLER, A. - (1967) Monoamine levels and neuronal degeneration in rat brain following lateral hypothalamic lesions. J. Pharmacol. Exp. Ther. 15[illegible]

NAUTA, W.J.H. - (1956) An experimental study of the [illegible] system in the rat. J. Comp. Neurol. 104, 247-271.

NAUTA, W.J.H. - (1958) Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. Brain 81, 319-340.

[illegible], L. - (19[illegible]) [illegible] J. Physiol. (P[illegible]), Suppl. 1 [illegible]

[illegible] chlorpromazine on accumulation and disappearance of catecholamines formed in vivo from ^{14}C- tyrosine. [illegible]

OLSON, L. et MALMFORS, T. - (1970) Growth characteristics of adrenergic nerves in the adult rat. Fluorescence histochemical and ^{3}H-noradrenaline uptake studies using tissue transplantations to the anterior chamber of the eye. Acta Physiol. Suppl. 348, 1-112.

.../...

PA[illegible] A., [illegible]-JAC[illegible], C. et [illegible], [illegible] - (19[illegible])
Effect of interrupting the hypothalamic nervous connections [illegible] content of the [illegible].
[illegible] [illegible], [illegible].

PATON, W.[illegible] - (19[illegible]) [illegible] transmission in the nervous system [illegible].
Ann. Rev. [illegible] 20, [illegible].

[illegible] - (196[illegible]) [illegible] and [illegible] [illegible].
Science 1[illegible], [illegible].

PHILLIS, J.W., TEBECIS, A.K. et YORK, D.H. - (1968)
Histamine and some antihistaminics : their action on cerebral cortical neurones.
Brit. J. Pharmacol. 33, 426-440.

PILCHER, J.D. et SOLLMANN, T. - (1914-1915) Studies in the vasomotor centre. XII. The action of ergot and its constituents, ergotoxin, and histamine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 6, 365.

[illegible]
Life Sci. 10, 9[illegible]-998.

POHORECKY, L.A., Z[illegible]GMOND, [illegible], [illegible], L. et WURTMAN, R.J. - (1969) Olfactory bulb-removal : Effects on brain norepinephrine.
[illegible]

POWELL, T.P.S., GUILLERY, R.W. et COWAN, W.M. - (1957)
A quantitative study of the fornix mamillothalamic [illegible]
[illegible]

POWELL, E.W., [illegible], C.G., [illegible], [illegible] et AUSTIN, B. - (1972) Mammillary body fluorescence changes following septal or hippocampal lesions in the rat.
Neurobiology 4, 140-15[illegible].

RAINA, A. et [illegible], J. - (1970)

Federation Proc. 29, 1568.

RAISMAN, G. - (1969) [illegible] plasticity in the [illegible] of the adult rat.
[illegible] 14, [illegible].

REILLY, M.A. et SCHAYER, R.W. - (1970) In vivo studies on histamine catabolism and its inhibition.
Brit. J. Pharmacol. 38, 478.

RILEY, J.F. - (1959) The Mast cells.
(E. and S. Livingstone : Edinburgh and London).

RODRIGUEZ de LORES ARNAIZ, G. et de ROBERTIS, E. - (1964) 5-hydroxytryptophan decarboxylase activity in nerve endings of the rat brain.
J. Neurochem. 11, 213-219.

RÖNNBERG, A.L. et SCHWARTZ, J.-C. - (1969) Répartition régionale de l'histamine dans le cerveau de rat.
C.R. Acad. Sci. (Paris) 268, 2376-2379.

SAWYER, C.H. - (1955) Rhinencephalic involvement in pituitary activation by intraventricular histamine in the rabbit under nembutal anesthesia.
Am. J. Physiol. 180, 37-46.

SCHAYER, R.W. - (1956) Formation and binding of histamine by rat tissues in vitro.
Am. J. Physiol. 187, 63.

SCHAYER, R.W. - (1959) Metabolism of pharmacological quantities of histamine in vivo.
Physiol. Rev. 39, 116-126.

SCHAYER, R.W. - (1966a) Metabolism of histamine in vivo.
In Handbuch der Experimentellen Pharmakologie, 18, 672-689, ed. Eichler, O. et Farah, A. (Berlin : Springer).

SCHAYER, R.W. - (1966b) Enzymatic formation of histamine from histidine.
In Handbuch der Experimentellen Pharmakologie, 18, 688-725, ed. Eichler, O. et Farah, A. (Berlin : Springer).

SCHAYER, R.W. et REILLY, M. - (1970) In vivo formation and catabolism of (^{14}C) histamine in mouse brain.
J. Neurochem. 17, 1649-1655.

SCHAYER, R.W. et REILLY, M.A. - (1973) Formation and fate of histamine in rat and mouse brain.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 184, 33-40.

SCHUBERTH, J., SPARF, B. et SUNDWALL, A. - (1969) A technique for the study of acetylcholine turnover in mouse brain in vivo.
J. Neurochem. 16, 695-700.

SCHWARTZ, J.-C., LAMPART, C. et ROSE, C. - (1970) Properties and regional distribution of histidine decarboxylase in rat brain.
J. Neurochem. 17, 1527-1534.

.../...

SCHWARTZ, J.-C., LAMPART, C. et ROSE, C. - (1972)
Histamine formation in rat brain *in vivo* : Effects of histidine loads.
J. Neurochem. 19, 801-810.

SCHWARTZ, J.-C., LAMPART, C., ROSE, C., REHAULT, M.C., BISCHOFF, S. et POLLARD, H. - (1971a) Histamine formation in rat brain during development.
J. Neurochem. 18, 1787-1789.

SCHWARTZ, J.-C., POLLARD, H., BISCHOFF, S., REHAULT, M.C. et VERDIERE-SAHUQUE, M. - (1971c) Catabolism of ^{3}H-histamine in the rat brain after intracisternal administration.
Eur. J. Pharmacol. 16, 326-335.

SCHWARTZ, J.-C., RÖNNBERG, A.L., COHEN, Y. et VALETTE, G. - (1969) Histamine formation in rat stomach : Study of regulation mechanisms.
Eur. J. Pharmacol. 5, 272-278.

SHAW, G.G. - (1971) Hypothermia produced in mice by histamine acting on the central nervous system.
Brit. J. Pharmacol. 42, 205-214.

SHIMIZU, H., CREVELING, C.R. et DALY, J.W. - (1970)
The effect of histamines and other compounds on the formation of adenosine 3',5' - monophosphate on slices from cerebral cortex.
J. Neurochem. 17, 441-444.

SHORE, P.A., BURKHALTER, A. et COHN, V.H. - (1959)
A method for the fluorometric assay of histamine in [illegible].
J. Pharmacol. Exp. Ther. 127, 182-191.

SNYDER, S.H., AXELROD, J. et BAUER, H. - (1964) The fate of C^{14}-histamine in animal tissues.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 144, 373-379.

SNYDER, S.H., BALDESSARINI, R.J. et AXELROD, J. - (1966a) A sensitive and specific enzymatic isotopic assay for tissue histamine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 153, 544-549.

SNYDER, S.H., GLOWINSKI, J. et AXELROD, J. - (1966b) The physiologic disposition of H^3-histamine in the rat brain.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 153, 8-14.

SNYDER, S.H. et TAYLOR, K.M. - (1972a) Histamine in the brain : A neurotransmitter ?
From Perspectives in Neuropharmacology : A Tribute to Julius AXELROD, ed. Snyder, S.H. (Oxford University Press Inc. : New-York).

SNYDER, S.H. et TAYLOR, K.M. - Personal Communication cited by Garbarg, M. et coll., 1973
Brain Res. 50, 361-367.

SNYDER, S.H. et TAYLOR, K.M. - (1972b) Assay of biogenic amines and their deaminating enzymes in animal tissues.
In Research Methods in Neurochemistry, I, 287-315, ed. Marks, N. and Rodnight, R. (Plenum Publishing corp. : New-York, London).

SOURKES, T.L. et POIRIER, L. - (1965) Influence of the substantia nigra on the concentration of 5-HT and dopamine of the Striatum.
Nature 207, 202.

TABOR, H., et TABOR, C.W. - (1964) Spermidine, spermine and related amines.
Pharmacol. Rev. 16, 245-300.

TAYLOR, K.M. et SNYDER, S.H. - (1971a) Brain histamine : Rapid apparent turnover altered by restraint and cold stress.
Science (Washington) 172, 1037-1039.

TAYLOR, K.M. et SNYDER, S.H. - (1971b) Histamine in rat brain : Sensitive assay of endogenous levels, formation in vivo and lowering by inhibitors of histidine decarboxylase.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 179, 619-633.

TAYLOR, K.M. et SNYDER, S.H. - (1972a) Evaluation of the regulation of histamine levels in mouse brain.
J. Neurochem. 19, 341-354.

TAYLOR, K.M. et SNYDER, S.H. - (1972b) Isotopic microassay of histamine, histidine, histidine decarboxylase and histamine methyltransferase in brain tissue.
J. Neurochem. 19, 1343-1358.

TAYLOR, K.M., GFELLER, E. et SNYDER, S.H. - Cited by Snyder, S.H. et Taylor, K.M. (1972)
In Perspectives in Neuropharmacology : A tribute to Julius AXELROD, ed. Snyder, S.H. (Oxford University Press Inc. : New-York).

UNGERSTEDT, U. - Personal communication cited by Moore, R.Y., Björklund, A. et Stenevi, U. (1971)
Brain Res. 33, 13-35.

UNGERSTEDT, U. - (1971) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain.
Acta Physiol. Scand. Suppl. 367, 1-48.

UNGERSTEDT, U. et ARBUTHNOTT, G. - (1970) Quantitative recording of rotational behaviour in rats after 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system.
Brain Res. 24, 485-493.

.../...

UNGERSTEDT, U., ANDEN, N.-E., FUXE, K. - (1969) Direct chemical stimulation of dopaminergic mechanisms in the neostriatum of the rat.
Brain Res. 14, 461-471.

URBETSKY, M.J. et VOGT, M. - (1960) Effects of 6-hydroxydopamine on catecholamine containing neurones in the rat brain.
J. Neurochem. 17, 269-276.

VOGT, M. - (1954) The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after the administration of drugs.
J. Physiol. (London) 126, 451.

VOGT, M. - (1959) Catecholamines in brain.
Pharmacol. Rev. 11, 483.

WAELSCH, H., SPERRY, W. et STOYANOFF, V. - (1941)
J. Biol. Chem. 140, 883.

WATON, N.G. (1956) Studies on mammalian histidine decarboxylase.
Brit. J. Pharmacol. 11, 119.

WHITE, T. - (1959) Formation and catabolism of histamine in brain tissue in vitro.
J. Physiol. (London) 149, 34-42.

WHITE, T. - (1960) Formation and catabolism of histamine in cat brain in vivo.
J. Physiol. (London) 152, 299-308.

.../...

WHITE, T. - (1961) Inhibition of the methylation of histamine in cat brain.
J. Physiol. (London) 159, 191-197.

WHITE, T. - (1964) Biosynthesis, metabolism and function of histamine in the nervous system.
Federation Proc. 23, 1103-1106.

WHITE, T. - (1966) Histamine and methylhistamine in cat brain and other tissues.
Brit. J. Pharmacol. 26, 494-501.

WHITTAKER, V.P., MICHAELSON, I.A. et KIRKLAND, R.J.A. - (1964) The separation of synaptic vesicles from nerveending particles ("Synaptosomes").
Biochem. J. 90, 293-305.

WINDAUS, A et Vogt, W. - (1907) Synthèse des imidazolyl-Äthylamines.
Ber. 40, 3691.

YOUNG, A.B., PERT, C.D., BROWN, D.G., TAYLOR, K.M. et SNYDER, S.H. - (1971) Nuclear localization of histamine in neonatal rat brain.
Science 173, 247-249.

ZEMAN, W. et MAITLAND INNES, J.R. - (1963)
In Craigie's Neuroanatomy of the Rat.
(Academic Press : New-York and London).

A B R E V I A T I O N S

ACh	Acétylcholine
CA	Catécholamines
DA	Dopamine
DOPA	Dihydroxyphénylalanine
FMT	Faisceau médian du télencéphale
HA	Histamine
HD	Histidine décarboxylase
His	L-histidine
HMT	Histamine méthyltransférase
5-HT	5 - Hydroxytryptamine (Sérotonine)
LDH	Deshydrogénase lactique
MHA	Méthylhistamine
NA	Noradrénaline
6-OHDA	6 - Hydroxydopamine
5-AM	5 - Adénosyl-méthionine
SNC	Système nerveux central